

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Kliininen kemia

2013

Annika Helkearo

EROTELLUN PLASMANÄYTTEEN PREANALYYTTINEN SÄILYVYYS ERI OLOSUHTEISSA



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Annika Helkearo

EROTELLUN PLASMANÄYTTEEN PREANALYYTTINEN SÄILYVYYS ERI OLOSUHTEISSA

Laboratoriotoiminnan keskittyminen keskuslaboratorioihin on lisännyt verinäytteiden kuljetusta, joka on yksi mittausepävarmuuteen vaikuttavista tekijöistä. Kuljetukseen kuluva aika ja sen aikaiset olosuhteet voivat vaikuttaa näytteiden preanalyttiseen säilyvyyteen ja tämän myötä näytteiden ja laboratoriotulosten laadukkuuteen. Postitse lähetettävät näytteet altistuvat pidentyneelle säilytysajalle sekä vuodenaikojen mukaan vaihteleville lämpötiloille. Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää postitse lähetettyjen eroteltujen plasmanäytteiden kuljetuskäytännön toimivuutta ja näistä näytteistä määritettyjen laboratoriotulosten oikeellisuutta. Opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia postitukseen kuluvan ajan ja eri lämpötiloille altistumisen vaikutusta neljän yleisen kliinisen kemian analyysin tuloksiin. Analyytit olivat alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), glukoosi (P-Gluk), kalium (P-K) ja natrium (P-Na).

Opinnäytetyössä tutkittiin analyyttien tulosten muutoksia vertaamalla pidentyneen huoneenlämmössä säilytysajan, pidentyneen säilytysajan yhdessä pakkaselle altistumisen kanssa ja pidentyneen säilytysajan yhdessä lämmölle altistumisen kanssa jälkeisiä tuloksia näytteenottopäivänä määritettyihin tuloksiin. Eri sarjojen tuloksia verrattiin nollatuloksiin tilastollisin menetelmin sekä tutkittiin saavuttivatko tulokset tutkimusten analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut laatutavoitteet. Tutkimuksen otoskoko n oli 50.

Tuloksena todettiin kaikkien tutkittujen olosuhteiden aiheuttavan tilastollisesti merkitsevää eroa työhön valittujen analyttien tuloksiin. Ainoana poikkeuksena oli huoneenlämmössä säilytyksen vaikutus näytteiden P-ALAT-tuloksiin. Tutkituista olosuhteista pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä piti näytteet laadukkaimpina. Lämmölle altistuminen yhdessä pidentyneen säilytysajan kanssa aiheutti eniten poikkeamista laatutavoitteista, etenkin P-Gluk-tulosten kohdalla.

ASIASANAT:

Mittausepävarmuus, preanalyttinen säilyvyys, plasmanäyte

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biomedical Laboratory Science | Clinical Chemistry

2013 | 51+5

Instructors: Marja Kelander, Irja Hieta

Annika Helkearo

PRE-ANALYTICAL STABILITY OF SEPARATED PLASMA SAMPLE DURING DIFFERENT CONDITIONS

The centralisation of the laboratory services has increased the transport of the blood samples, which is one factor of the measurement uncertainty. The time taken by and the conditions during the transport may influence the pre-analytical stability of the samples and through this the quality of the samples and laboratory results. The samples sent by mail are exposed to extended storage time and to temperatures that vary with seasons. The objective of this thesis was to investigate the operability of the transport of the separated plasma samples sent by mail and the validity of the laboratory results analysed from these samples. The purpose of this thesis was to study the influence of the time spent by mailing and the exposure to various temperatures to the results of four common analytes of clinical chemistry. The chosen analytes were alanine aminotransferase (P-ALT), glucose (P-GLU), potassium (P-K) and sodium (P-Na).

This thesis studied the changes in analytes' results by comparing results after the exposure to extended storage time at room temperature, the extended storage time combined with exposure to temperatures below zero and the extended storage time combined with exposure to heat to the results analysed on the day of the phlebotomy. The results of the different series were compared to 0-results with statistical methods. It was also studied if the results met the quality goals set to analytical error. The sample size of the study was 50.

As a result it was found that the studied conditions caused statistically significant differences to the results of the analytes chosen to this thesis. Only exception was the influence of the storage at room temperature to samples' P-ALT results. The extended storage time at room temperature preserved the samples with most quality within the studied conditions. The exposure to heat combined with extended storage time caused most deviation from the quality goals. Especially the glucose results were affected by this condition.

KEYWORDS:

Uncertainty of measurement, pre-analytical stability, plasma sample

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 PREANALYYTTINEN SÄILYVYYS JA SEN TUTKIMINEN	7
2.1 Mittausepävarmuus	7
2.2 Preamalyyttinen säilyvyys	9
2.3 Plasmanäyte	11
2.4 Aikaisempia tutkimuksia	11
2.5 Opinnäytetyössä käytetyt analyytit	15
2.5.1 Alaniiniaminotransferaasi	15
2.5.2 Glukoosi	16
2.5.3 Kalium	17
2.5.4 Natrium	18
2.6 Analyysimenetelmät	19
3 TAVOITE JA TARKOITUS	22
4 TOTEUTUS	23
4.1 Metodiset ratkaisut	23
4.2 Käytännön toteutus	24
5 TULOKSET	27
5.1 Alaniiniaminotransferaasi	28
5.2 Glukoosi	31
5.3 Kalium	34
5.4 Natrium	36
5.5 Analyytiset kokonaisvirheet	39
6 JOHTOPÄÄTÖKSET	41
7 POHDINTA	43
7.1 Tutkimuksen luotettavuus	45
7.2 Tutkimusetiikka	46
LÄHTEET	49

LIITTEET

Liite 1. Tutkimuslupa.

Liite 2. Konelab 60i:llä määritetyt tulokset.

Liite 3. Konelab 60i:llä käytettyjen kontrollien tulokset

KUVIOT

Kuvio 1. Laboratoriotuloksen kokonaisepävarmuuden osatekijät (Pohjavaara ym. 2003).	8
Kuvio 2. P-ALAT-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.	29
Kuvio 3. P-ALAT-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.	31
Kuvio 4. P-Gluk-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.	32
Kuvio 5. P-Gluk-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.	33
Kuvio 6. P-K-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.	35
Kuvio 7. P-K-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.	36
Kuvio 8. P-Na-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.	37
Kuvio 9. P-Na-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.	38

TAULUKOT

Taulukko 1. Tavoitteet analyttiselle kokonaisvirheelle (Labquality 2005).	8
Taulukko 2. P-ALAT-sarjojen tulosten tunnusluvut.	29
Taulukko 3. P-ALAT:in +37 °C-sarjan tulosten Wilcoxonin testin tulokset.	30
Taulukko 4. P-Gluk-sarjojen tulosten tunnusluvut.	32
Taulukko 5. P-K-sarjojen tulosten tunnusluvut.	34
Taulukko 6. P-Na-sarjojen tulosten tunnusluvut.	37
Taulukko 7. P-ALAT-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.	39
Taulukko 8. P-Gluk-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.	39
Taulukko 9. P-K-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.	40
Taulukko 10. P-Na-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.	40

1 JOHDANTO

Perusterveydenhuollon viime vuosien rakenteelliset muutokset ovat johtaneet myös sairaanhoidollisten tukipalveluiden, kuten laboratoriotoiminnan yhdistymiseen alueellisiksi keskuksiksi erillisten laboratorioyksiköiden sijaan (Lindén 2007, 99-100). Terveyskeskusten laboratorioissa määritettävä tutkimusvalikoima on supistunut ja näytteistä yhä suurempi osa analysoidaan keskuslaboratorioissa. Keskittäminen parantaa toiminnan tehokkuutta sekä laadunhallintaa. (Pohjavaara, Malminiemi & Kouri 2003, 400, 402.) Laboratoriotulosten vertailu helpottuu yksiköiden käyttämien eri menetelmien aiheuttamien erojen poistuksessa (Tanner 2007, 22). Analytiikan keskittäminen on lisännyt näytteiden kuljetustarvetta (Kaila 2008, 105). Tämä nostaa esiin näytteiden säilyvyyden kuljetusten aikana niiden altistuessa paitsi viiveelle myös ympäristön vaikutuksille, kuten lämpötilan vaihteluille (Pohjavaara ym. 2003, 400). Onkin suositeltavaa tutkia säilytyksen ja kuljetuksen vaikutuksia tulosten mittausepävarmuuteen (Kouri ym. 2005, 473).

Tykslabin osastolle 183 Loimaalle lähetetään näytteitä analysoitaviksi Pöytyän, Säkylän, Huittisten ja Forssan terveyskeskuksista sekä Fimlab Laboratoriot Oy:stä postitse kirjelähetyksinä. Näytteet lähetetään erotteluputkiin eroteltuina plasmanäytteinä ja ne ovat perillä analysoivassa laboratoriossa pääasiassa näytteenottoa seuraavana päivänä. (Allen-Perkko, 25.9.2012.) Postitse lähetettävien näytteiden olosuhteiden pysyvyys on epävarmaa, koska niille ei taata tiettyä kuljetuslämpötilaa. Lämpötilojen vaihtelu kesä- ja talviaikaan saattavat vaarantaa näytteiden laadukkuuden. (Malminiemi 2008, 107.)

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää postitse lähetettyjen plasmanäytteiden tulosten laadukkuus, jotta potilaat saisivat mahdollisimman hyvää hoitoa. Opinnäytetyöhön valittiin neljä yleistä kemian analyyttiä: alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), glukoosi (P-Gluk), kalium (P-K) ja natrium (P-Na). Työssä tutkitaan ajan ja eri lämpötiloille altistumisen vaikutuksia näiden analyyttien tuloksiin.

2 PREANALYYTTINEN SÄILYVYYS JA SEN TUTKIMINEN

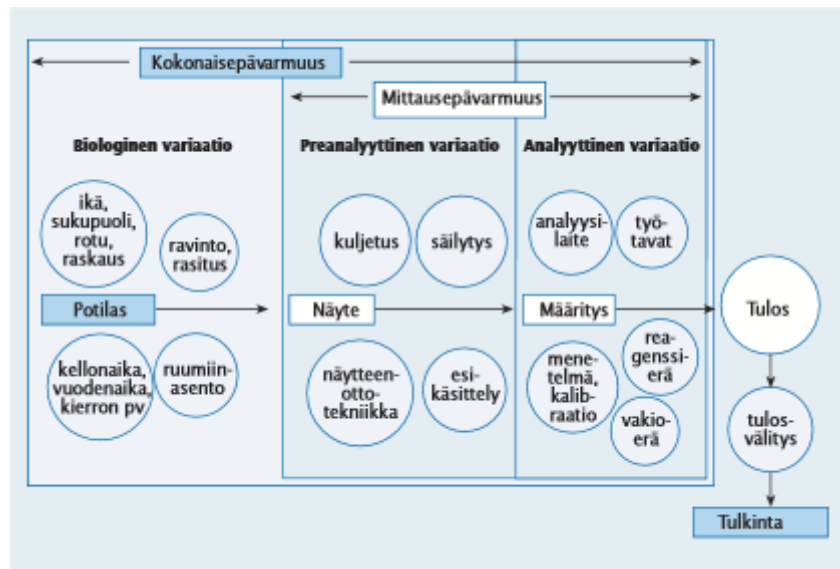
2.1 Mittausepävarmuus

Laboratoriotutkimuksen tulokseen liittyy aina sen luotettavuuteen vaikuttavia tekijöitä. Kliinisten laboratorioden tulee tunnistaa nämä tekijät sekä laskea tai arvioida niiden aiheuttamat vaikutukset tutkimusten tuloksiin. (Kouri ym. 2002, 139.) Tekijät aiheuttavat tutkimustulosten tilastollisen hajonnan, jonka sisällä tutkimustulos todennäköisesti on. Tätä kutsutaan laboratoriotuloksen epävarmuudeksi. Epävarmuus voidaan laskea ja esittää numeerisesti, tavallisimmin se ilmoitetaan hajonnan variaatiokertoimena. (Kouri ym. 2002, 141; Pohjavaara ym. 2003, 401.)

Laboratoriotulosten kokonaisepävarmuuteen vaikuttavat potilaaseen liittyvät biologiset tekijät, näytteeseen liittyvät preanalyttiset tekijät sekä analysointiin liittyvät tekijät (Kuvio 1). Biologisia tekijöitä ovat esim. potilaan ikä ja sukupuoli sekä näytteenoton ajankohta ja sitä ennen nautittu ravinto. (Kouri ym. 2002, 140-142; Pohjavaara ym. 2003, 399, 401.) Osa biologisista tekijöistä voidaan vakioida ohjaamalla potilasta esim. näytteenottoa edeltävään paastoon ja näin poistaa ravinnon aiheuttama epävarmuus (Kouri ym. 2002, 141).

Käsiteltäessä pelkästään näytteeseen liittyviä tekijöitä puhutaan mittausepävarmuudesta. Preanalyttisiin epävarmuustekijöihin kuuluvat eri näytteenotto-tekniikoihin liittyvä vaihtelu ja näytteen esikäsittely. Preanalyttisiä tekijöitä ovat myös näytteen kuljetus ja säilytys. Analyttiset tekijät liittyvät näytteen määrittämiseen. Näitä ovat analyysilaitte, menetelmän kalibrointi, käytetyt reagenssit sekä työtavat. (Kouri ym. 2002, 140-142; Pohjavaara ym. 2003, 401.) Analyttinen vaihtelu voidaan laskea näytesarjojen sisäisistä ja niiden välisistä vaihteluista sekä menetelmän vakiointiin liittyvistä vaihteluista. Preanalyttisten tekijöiden huomiointi on hankalampaa, koska niiden suuruutta ja hajontaa on vaikea mita-

ta. Näiden tekijöiden vaikutuksia on pyritty minimoimaan vakioimalla työtapoja. (Pohjavaara ym. 2003, 401.)



Kuvio 1. Laboratoriotuloksen kokonaispäävarmuuden osatekijät (Pohjavaara ym. 2003).

Labquality Oy:n laatutavoitetyöryhmä on laatinut laatutavoitteet tavallisimmille kliinisen kemian tutkimuksille. Analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoitteet sisältävät analyttisen hajonnan eli toistuvuuden sekä tulostason systemaattisen poikkeaman aiheuttaman hajonnan. Näitä tavoitteita käytetään lähinnä ulkoisessa laadunarvioinnissa arvioimassa yksittäisten näytteiden tulosten laadukkuutta. (Labquality 2005.) Tavoitteet tässä opinnäytetyössä käytetyille analyteille on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Tavoitteet analyttiselle kokonaisvirheelle (Labquality 2005).

Analyytti	Tavoite
ALAT	$\pm 12 \%$
Gluk	$\pm 6 \%$
K	$\pm 4 \%$
Na	$\pm 2 \%$

2.2 Preamalyttinen säilyvyys

Laboratoriotutkimuksen preanalyttinen vaihe käsittää tapahtumat ennen näytteen analysointia. Ensimmäinen askel on tutkimustarpeen toteaminen, joka johtaa tutkimuspyynnön tekoon. Potilaan ohjaaminen näytteenottoa varten ja tämän valmistautuminen edeltävät näytteenottotapahtumaa. Näytteenottoa seuraa näytteen säilytys ja kuljetus laboratorioon, näytteen esikäsittely ja tutkimuskelpoisuuden arviointi. Laboratoriossa näyte vielä dokumentoidaan ennen analysointia. Jokainen näistä vaiheista on tärkeä laadukkaan ja luotettavan tuloksen saamiseksi. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 8-12; Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 10-12.) Virheistä jopa puolen on arvioitu tapahtuvan preanalytiikan eri vaiheissa (Tanner 2008, 104).

Tutkimustuloksen laadukkuuden tärkeä edellytys on näytteen preanalyttinen säilyvyys. Tämä tarkoittaa tutkittavan analyytin pitoisuuden ja koostumuksen pysymistä muuttumattomana näytteenottohetkestä analysointihetkeen. Näytteen säilytys- ja kuljetusolosuhteet ovat kriittisiä vaiheita säilyvyyden kannalta. (Tapola 2004a 29-30; Tuokko ym. 2008, 10; Matikainen ym. 2010, 42-43.)

Veri on biologista materiaalia, jossa kemialliset ja fysikaaliset reaktiot jatkuvat myös näytteenoton jälkeen. Verisolujen ja plasman välillä tapahtuu ainesosien siirtymistä molempiin suuntiin niin kauan kuin solut ja plasma ovat kosketuksissa. (Tuokko ym. 2008, 114; Matikainen ym. 2010, 42-43.) Sentrifugoinnilla eli solujen ja plasman erottamisella toisistaan estetään ainesosien siirtyminen niiden välillä (Tuokko ym. 2008, 115-116). Mitattavien analyyttien pitoisuuksiin voi vaikuttaa avoimesta näyteastiasta tapahtuva haihtuminen. Näytteet pitääkin aina säilyttää suljetussa astiassa. Ultraviolettilo valo voi muuttaa analyytin kemiallista koostumusta, jolloin näyte on suojattava auringonvalolta. Näytteen kontaminoituminen bakteereilla voi muuttaa mitattavien ainesosien pitoisuuksia tai aiheuttaa esim. näytteen sameutta, joka häiritsee analysointia. (Tuokko ym. 2008, 115; Matikainen ym. 2010, 42-43.)

Näytteen säilyvyyden kannalta keskeisiä tekijöitä ovat aika ja lämpötila. Mitä nopeammin näyte analysoidaan näytteenoton jälkeen, sitä vähemmän olosuh-

teet ehtivät muuttaa analyyttien pitoisuuksia. Säilytyksen ja kuljetuksen aikainen lämpötila vaikuttaa kemiallisten ja fysikaalisten reaktioiden nopeuteen. Toiset analyytit säilyvät ainoastaan pakastetuissa näytteissä, toiset näytteet pitää säilyttää huoneenlämmössä ja toiset viileässä. (Tapola 2004a, 29-30; Tuokko ym. 2008, 116; Matikainen ym. 2010, 42-43.) Laboratoriot ilmoittavat näytteiden säilyvyyden yleensä säilyvyysaikana tietyssä lämpötilassa tietynä näytemateriaalina esim. plasmana (Malminiemi 2008, 107).

Hajautettu näytteenotto ja analytiikan keskittäminen ovat lisänneet näytteiden kuljetustarvetta (Kaila 2008, 105). Kuljetuksen tulee tapahtua näytteistä tutkittavien analyyttien kannalta sopivassa ajassa ja oikeassa lämpötilassa (Pohjala 2009, 37). Näytteiden lämpötilan pitäisi pysyä vakiona kuljetuksen aikana. Näytteet tulisi pakata eristettyihin kuljetuslaatikoihin ja niiden lämpötilaa tulisi seurata seurantamittarin avulla. (Tuokko ym. 2008, 116.) Mikäli näytteen kuljetus vie aikaa esim. postituksen takia ja näyte tutkitaan vasta seuraavana päivänä, erotetaan plasma soluista siirtämällä se erilliseen erotteluputkeen (Tapola 2004a, 30; Guder, Narayanan, Wisser & Zawta 2009, 38). Monet kemialliset analyytit kuten elektrolyytit ja entsyymit, kestävät postitse kuljetusta jopa neljän päivän ajan (Guder ym. 2009, 38-39). Lämpötilan vakiointi voi olla ongelmallista postitse lähetettävien näytteiden osalta vuodenaikojen mukaan vaihtelevien lämpötilojen takia. (Malminiemi 2008, 107).

Postitse lähetettävät näytteet pakataan Itellan ohjeiden mukaan. Tiiviit primaariastiat pakataan sekundaariastiaan niin, etteivät primaariastiat kosketa toisiaan. Nestemäisten näytteiden sekundaariastiaan pitää laittaa imeytysainetta primaariastioiden rikkoutumisen varalta. Sekundaariastia pakataan keltamustaraitaiseen pahvilaatikkoon, jonka päälle tulee asianmukaiset merkinnät biologisesta materiaalista. (Itella 2011.) Tykslab os. 183:lle saapuvissa postilähetyksissä ei ole lämpötilan seurantaa (Allen-Perkko, 25.9.2012).

2.3 Plasmanäyte

Suuri osa kliinisen kemian perustutkimuksista analysoidaan nykyään plasmasta ja niiden viitearvot on määritetty plasmanäytteille (Tykslab 2013). Plasma on hyytymättömäksi käsitellyn verinäytteen supernatantti eli sentrifugoinnin jälkeinen soluton neste. Seerumi puolestaan on hyytyneen verinäytteen supernatantti. Veren hyytymistä estämään käytetään erilaisia antikoagulantteja. Tällaisia ovat esimerkiksi sitraatti, EDTA ja hepariini. (Tapola 2004b, 25; Guder ym. 2009, 34,36.) Litiumhepariinia käytetään yleisesti kliinisen kemian plasmanäytteiden antikoagulanttina (Guder ym. 2009, 36). Plasmanäytteen etuliite on P- (Tuokko ym. 2008, 11). Tykslabin laboratorioissa käytetään tämän opinnäytetyön analyyttien näytelaatuna litiumhepariiniplasmaa (Tykslab 2013).

Plasmanäytteessä tutkittavien analyyttien pitoisuudet vastaavat seerumia tarkemmin elimistössä olevaa tilaa. Plasmanäytteen etuna on myös nopeus, näyte voidaan sentrifugoida odottamatta veren hyytymistä. Plasmaa erottuu 15–20 % seerumia enemmän kokoverestä, tämä on eduksi etenkin pienissä näytemääri-
rissä. (Tapola 2004b, 25-26; Guder ym. 2009, 35.) Plasmanäytteet soveltuvat myös seeruminäytteitä paremmin automatisoiduille analyyslaitteille (Tapola 2004b, 25). Kaikille tutkimuksille plasmanäyte ei sovellu, esim. proteiinien elektroforeesi vääristyy plasman fibrinogeenin takia (Guder ym. 2009, 35).

2.4 Aikaisempia tutkimuksia

Yhdysvaltalaiset Boyanton & Blick (2002) tutkivat 24 kemian analyytin pysyvyyttä plasmassa ja seerumissa. He tutkivat sekä verisolujen ja plasman tai seerumin pitkittyneen kontaktin että nopean erotuksen vaikutusta analyyttien pysyvyyteen. Laskimoverinäytteet kerättiin 10 vapaaehtoiselta. Viivytyksettä sentrifugoiduista näytteistä plasma tai seerumi eroteltiin näytekuppeihin. Sekä kokoverinäytteitä että eroteltuja plasma-/seeruminäytteitä säilytettiin huoneenlämmössä. Ensimmäiset analyysit tehtiin ½ tunnin kuluttua näytteenotosta. Näiden

tulosten keskiarvoihin verrattiin tuloksia, jotka analysoitiin yhteensä 8 kertaa 4–56 tunnin kuluttua näytteenotosta.

Tutkimuksen tuloksena oli, että solujen kanssa pitkittyneessä kontaktissa olleissa plasma- ja seeruminäytteissä 24 analyytistä 15:ta tuloksissa havaittiin kliinisesti merkittäviä muutoksia ajan kuluessa. Muutokset olivat suurempia plasma-näytteissä kuin seeruminäytteissä. Syitä muutokseen olivat mm. solujen käyttämän glukoosin väheneminen, solujen sisään siirtyneen nesteen aiheuttama hemokonsentraatio sekä solunsisäisten ainesosien vuotaminen plasmaan. Esimerkkeinä huonosti kokoveressä säilyvistä analyyteistä olivat kalium, glukoosi ja kreatiniini. Viivätyksettä erotelluissa plasma- ja seeruminäytteissä kaikki tutkitut 24 analyyttiä olivat vakaita koko 56 tunnin ajan. Tutkijat osasivat odottaa seeruminäytteiden olevankin vakaita aikaisempien tutkimusten perusteella. Plasmanäytteiden pysyvyydestä ei ollut aikaisempaa näyttöä. Tämän tutkimuksen perusteella todettiin eroteltujen plasma- ja seeruminäytteiden pysyvyyden olevan samanlaiset samoissa olosuhteissa 56 tunnin ajan. (Boyanton & Blick 2002.)

Suomessa Tampereella tehdyssä tutkimuksessa Kouri ym. (2005) tutkivat eri preanalyyttisiä tekijöitä ja arvioivat niiden perusteella yleisimpien kliinisen kemian ja hematologian tutkimusten mittausepävarmuutta. Preanalyyttisten tekijöiden lisäksi mittausepävarmuuteen laskettiin mukaan analyyttiset vaihtelut sekä kirjallisuudessa ilmoitetut biologiset vaihtelut. Tutkijoiden tavoitteena oli määrittää laatuvaatimuksia alueellisille laboratoriopalveluille. Preanalyttiset tekijät, joihin liittyviä epävarmuustekijöitä tutkijat arvioivat olivat verinäytteenotto, esikäsittely, alueellinen kuljetus sekä säilytys. Kliinisen kemian tutkimuksista oli mukaan valittu seerumin kolesteroli, albumiini, kalium, tyreotropiini, vapaa tyroksiini ja C-reaktiivinen proteiini eli CRP.

Verinäytteenottoon liittyviä vaihteluja tutkittiin ottamalla näytteet yhteensä 10 henkilöltä molemmista käsivarsista. Viivästyneen esikäsittelyn vaikutuksia tutkittiin vertaamalla heti käsiteltyjen ja kolme tuntia huoneenlämmössä seisotettujen näytteiden tuloksia. Alueellisen kuljetuksen aiheuttamia vaikutuksia tutkittiin kuljettamalla 14 henkilön verinäytteitä neljän tunnin ajan autossa ja vertaamalla

näistä näytteistä saatuja tuloksia viivytyksettä analysoitujen näytteiden tuloksiin. Näytteiden viikonlopun yli säilyttämisen aiheuttamia vaihteluja tutkijat selvittivät säilyttämällä näytteitä +4 °C:ssa kolmen päivän ajan ja vertaamalla näistä näytteistä analysoituja tuloksia ennen säilytystä saatuihin tuloksiin. (Kouri ym. 2005.)

Tuloksina todettiin näytteenoton ja viivästyneen esikäsittelyn olevan merkittäviä epävarmuustekijöitä seerumin albumiinin ja kaliumin kohdalla. Myös kolmen päivän säilytys +4 °C:ssa aiheutti muutoksia seerumin kaliumin sekä myös CRP:n tuloksiin. Alueellisen kuljetuksen ei todettu vaikuttavan merkittävästi mitausepävarmuuteen. (Kouri ym. 2005.)

Tanskassa Jensen, Stahl, Brandslund & Grinsted (2008) tutkivat erilaisten verinäytteiden kuljetusmenetelmien vaikutuksia plasmanäytteiden 21 klinisen kemian analyysin tuloksiin. Yhdeksässä eri näytteenottopaikassa otetut yhteensä 406 potilaan näytteet tutkittiin kahdessa eri laboratoriossa kahtena eri ajankohdana, kesällä ja talvella. Tutkijat asettivat tutkimuksen alussa tuloksille laatuvaatimukset ja niiden täyttymisen mukaan tekivät johtopäätökset tavoitteet saavuttavista kuljetusmenetelmistä. Näytteitä kuljetettiin kokoverenä lähettipalvelun ja linja-auton kyydissä sekä näytteenottopaikassa sentrifugoituina geeliputkissa eli ”geelin päällä” lähettipalvelun ja linja-auton kyydissä sekä postitse. Lisäksi 100 näytteistä lähetettiin eroteltuina plasmanäytteinä postitse. Vertailunäytteinä eli ns. nollanäytteinä käytettiin näytteenottopaikassa sentrifugoituja ja eroteltuja plasmanäytteitä, jotka kuljetettiin erityisissä kuljetuslaatikoissa joiden lämpötila oli tasaisesti +21 °C ± 1.

Näytteenottopaikoissa näytteet sentrifugoitiin 3–4 tunnin kuluessa näytteenotosta, kokoverinäytteenä lähetetyt näytteet sentrifugoitiin laboratorioissa 4–8 tunnin kuluessa näytteenotosta. Analysointi tapahtui keskimäärin 6–10 tunnin kuluttua näytteenotosta, postitse lähetetyt näytteet analysoitiin noin 30 tunnin kuluttua näytteenotosta. Osa kokoverinäytteistä säilytettiin ja kuljetettiin samanlaisissa kuljetuslaatikoissa kuin nollanäytteet. Muut näytteet altistuivat vaihteleville lämpötiloille vuodenajasta riippuen. Talvella alin lämpötila oli lyhyissä kuljetuksissa

-1,7 °C ja postitse lähetetyt altistuivat -8,6 °C:lle. Kesällä näytteet altistuivat yli +30 °C:lle. (Jensen ym. 2008.)

Analyyteistä fosfaatti osoittautui herkimmäksi reagoimaan kuljetusolosuhteisiin. Useimmissa tutkituissa kuljetusmenetelmissä hyväksytyjen tulosten määrä oli huomattavan alhainen, alimmillaan vain 27 % kaikista tuloksista. Kaliumin pysyvyyteen vaikutti erityisesti kokoverenä kuljetus korkeissa lämpötiloissa. Muita etenkin kesälämpötiloille herkkiä analyyttejä olivat mm. ALAT, laktaattidehydrogenaasi sekä glutamyyli transferaasi eli GT. Tutkijoiden laatutavoitteiden täyttymiseksi tulee verinäytteiden kuljetuksen tapahtua lähettipalvelun toimesta joko kokoverenä tai ”geelin päällä” säilytyslämpötilan ollessa 20–25 °C ja sentrifugoinnin/analysoinnin tulee tapahtua 5–6 tunnin kuluessa näytteenotosta. (Jensen ym. 2008.)

Jensenin ym. mukaan erotellut plasmanäytteet voidaan lähettää postitse, paitsi tutkittaessa fosfaattia. Talvella lähetettyjen näytteiden ALAT-tulokset olivat 99 %:sti tutkijoiden asettamissa tavoiterajoissa, kalium- ja natriumtuloksista 100 % saavutti tavoitteet. Kesällä postitettujen näytteiden tuloksista 98 % saavutti tavoiterajat ALAT:in kohdalla, kaliumin tuloksista 95 % ja natriumin tuloksista 100 % oli tavoiterajoissa. (Jensen ym. 2008.)

Ranskassa Oddoze, Lombard & Portugal (2012) tutkivat 81 eri analyytin pysyvyyttä kokoveressä, seerumissa ja plasmassa. Näistä analyyteistä 39 oli kliinisen kemian analyyttejä. Tutkimuksessa tutkittiin erilaisten näytteenottoputkien, viivyttyksettömän ja viivästyneen sentrifugoinnin, eri säilytyslämpötilojen ja viivästyneen analyysin vaikutuksia tuloksiin. Tuloksia verrattiin heti näytteenoton jälkeen analysoituihin nollanäytteisiin. Verinäytteet kerättiin 10 henkilöltä jokaisesta analyyttiä kohden. Näyteputket olivat puhtaita, sisälsivät hyytymisaktivaattoria tai erilaisia antikoagulantteja kuten esim. litiumhepariinia. Näytteitä säilytettiin eri muodoissaan, kokoverenä tai sentrifugoituina primaariputkissaan joko huoneenlämmössä tai +4 °C:ssa ja ne analysoitiin 2 tunnin, 4 tunnin, 6 tunnin ja 24 tunnin kuluttua näytteenotosta. Eri putkityypin, sentrifugointiajankohdan, säilytyslämpötilan ja -ajan yhdistelmistä saatuja tuloksia verrattiin nollanäytteiden tuloksiin.

Tuloksena todettiin, että 31 kliinisen kemian analyytin osalta näytteet olivat tutkimuskelpoisia 24 tunnin jälkeen kokoverenä sekä seerumi- ja plasmanäytteinä sentrifugoituna primaariputkessa säilytettynä. Säilytyslämpötilalla ei ollut vaikutusta analyyttien pysyvyyteen. Tutkimuskelpoisia analyyttejä olivat esim. natrium, ALAT, GT ja CRP. Eräiden analyyttien tuloksiin vaikuttivat erityisesti viivästynyt sentrifugointi sekä säilytyslämpötila. Tällaisia analyyttejä olivat esim. kalium ja glukoosi. (Oddoze ym. 2012.)

2.5 Opinnäytetyössä käytetyt analyytit

Tähän opinnäytetyöhön valittiin neljä analyyttiä edustamaan kliinisen kemian analyyttejä. Nämä analyytit olivat alaniiniaminotransferaasi, glukoosi, kalium ja natrium. Nämä kaikki ovat yleisesti tutkittuja sekä omalla tavallaan merkittäviä potilaan hoidossa ja tilan seurannassa. Analyytit ovat tarkoitukseltaan ja toiminnaltaan erilaisia ihmisen elimistössä.

2.5.1 Alaniiniaminotransferaasi

Alaniiniaminotransferaasi eli ALAT on entsyymi, jota esiintyy pääasiassa maksan soluissa. ALAT osallistuu aminohappojen aineenvaihduntaan saamalla aikaan aminoryhmien siirtymisen molekyyliden välillä. Maksan ohella ALAT:ia löytyy myös munuaisten soluista. ALAT:ia esiintyy solujen solulimassa. (Panteghini & Bais 2008, 322.) Äkillisissä soluvaurioissa solut turpoavat ja osa niistä vaurioituu. Tällöin solun sisällä ollut ALAT-entsyymi pääsee verenkiertoon, missä sen pitoisuus nousee. (Niemi & Parkkila 2010, 172.) Kohonnut ALAT-pitoisuus plasmassa on miltei aina merkki maksasairaudesta. Se on hyvin spesifinen maksavauriolle, joten ALAT-arvoa voidaan käyttää maksasairauksien seulontatutkimuksena. (Panteghini & Bais 2008, 323; Niemi & Parkkila 2010, 171.)

ALAT-pitoisuus nousee erityisesti virushepatiiteissa, jolloin se voi olla monikymmenkertainen normaaliarvoon verrattuna (Panteghini & Bais 2008, 323; Niemi & Parkkila 2010, 172). Korkeimmat arvot mitataan reilun viikon kuluttua

taudin alkamisesta, usein jo ennen kliinisten oireiden kuten keltaisuuden ilmaantumista. Pitoisuus laskee kolmesta viiteen viikon kuluessa. Mikäli ALAT-pitoisuus ei laske normaalitasolle, vaan jää jonkin verran koholle, voidaan olettaa akuutin taudin muuttuneen krooniseksi. ALAT-arvon avulla voidaan seurata taudin etenemistä. (Panteghini & Bais 2008, 323.) Korkeita arvoja tavataan myös myrkytysten aiheuttamissa maksavaurioissa. ALAT-pitoisuus nousee myös mm. sappitietukoksissa ja maksakirroosissa, mutta ei yhtä korkealle kuin hepatiittitapauksissa tai myrkytyksissä. (Panteghini & Bais 2008, 323; Niemelä & Parkkila 2010, 172.) Lievää nousua esiintyy myös maksan pahanlaatuisten kasvainten yhteydessä (Panteghini & Bais 2008, 323).

Entsyymien, kuten ALAT:in säilyvyyteen vaikuttaa mm. liuoksen pH, ionipitoisuus sekä lämpötila. Lämpötilan muutokset, erityisesti toistuva jäätyminen ja sulaminen voivat aiheuttaa entsyymien denaturoitumisen eli rakenteen rikkoutumisen, mikä estää entsyymin normaalin toiminnan. Säilytettäessä näytteen entsyymiaktiivisuus voi alentua myös entsyymien säilytysastiaan tarttumisen seurauksena. (Copeland 2000, 258-260.)

P-ALAT määritetään hepariiniplasmasta. Sen viitearvot ovat miehille 10–70 U/l ja naisille 10–45 U/l. Hemolyysi nostaa pitoisuuksia. Näytteenkäsittelyohjeen mukaan eroteltu näyte lähetetään analysoitavaksi huoneenlämmössä, jääkaapissa se säilyy viikon ajan. (Tykslab 2013.)

2.5.2 Glukoosi

Glukoosi on elimistön ensisijainen energian lähde. Glukoosi on monosakkaridi eli yksinkertainen hiilihydraatti, jota ei voida hydrolysoida eli pilkkoa pienempiin osiin. Glukoosia saadaan ravinnosta, josta se imeytyy ohutsuolessa verenkiertoon. Ylimäärä varastoidaan glykokeeninä lihaksiin ja maksaan, mistä se on otettavissa käyttöön tarvittaessa. Glukoosia tuotetaan myös elimistössä maksassa glukoneogeneesin avulla. Glukoosin pitoisuutta verenkierrossa säätelevät insuliini, joka laskee glukoosin pitoisuutta sekä glukagoni, adrenaliini, kortisoli ja

kasvuhormoni, jotka nostavat glukoosin pitoisuutta verenkierrassa. (Sacks 2008, 373-376.)

Glukoosipitoisuuden määrittäminen on yksi yleisimmistä määrittämisistä kliinisen kemian laboratorioissa (Sacks 2008, 374). Sitä käytetään hiilihydraattiaineenvaihdunnan häiriöiden diagnosointiin sekä seurantaan. Diabetes mellituksen diagnoosi perustuu paaston jälkeisiin korkeisiin glukoosipitoisuuksiin eli hyperglykemiaan. (Penttilä 2004a, 123; Sacks 2008, 382-383.) Alhainen glukoosipitoisuus eli hypoglykemia johtuu liiallisesta insuliinin saannista (Sacks 2008, 386).

Näytteenoton jälkeen glukoosipitoisuus laskee glykolyysin takia eli solujen hajottaessa glukoosia energian saamiseksi. Näytteen säilyttäminen viileässä hidastaa glykolyysiä ja se voidaan pysäyttää erottamalla solut plasmasta. Myös lisäämällä näytteeseen fluoridia saadaan glykolyysi estettyä. (Sacks 2008, 389.) Glukoosipitoisuuden määrittäminen suositellaan tehtävän plasmanäytteestä kokoveren sijaan. Glukoosipitoisuus on noin 10–13 % korkeampi plasmassa kuin kokoveressä. (Sacks 2008, 389; Koskinen 2010, 156.) Glukoosipitoisuuden viitearvo on 4–6 mmol/l yli 2 kuukauden ikäisillä. Eroteltu litiumhepariiniplasmanäyte lähetetään analysoitavaksi huoneenlämmössä, jääkaapissa se säilyy 2–3 vuorokautta. (Tykslab 2013.)

2.5.3 Kalium

Yhdisteitä, jotka esiintyvät sähköisesti varautuneina ioneina elimistössä kutsutaan elektrolyyteiksi (Uotila 2010, 93). Elimistön yksi tärkeimmistä positiivisesti varautuneista kationeista on kalium. Kaliumia saadaan ravinnosta ja se poistuu suurimmaksi osaksi munuaisten kautta. (Penttilä 2004b, 157; Scott, LeGrys & Klutts 2008, 433; Uotila 2010, 103.) Kaliumista noin 98 % on intrasellulaaritasalla eli solujen sisällä (Uotila 2010, 103). Solunsisäinen pitoisuus on noin 23-kertainen ekstrasellulaariseen eli solunulkoiseen pitoisuuteen verrattuna (Scott ym. 2008, 433). Solunsisäistä pitoisuutta ylläpitää solukalvon natriumkaliumpumppu, joka aktiivisesti siirtää kalium-ioneja solun sisälle. Pumpun avulla ylläpidetään sopivaa kaliumpitoisuutta, jolla on tärkeä merkitys mm. her-

mosolujen ja lihassolujen toiminnalle. (Penttilä 2004b, 157; Scott ym. 2008, 433.)

Alhainen solunulkoisen nesteen kaliumpitoisuus eli hypokalemia johtuu yleensä kaliumin liiallisesta poistumisesta elimistöstä esim. oksentelun, ripulin tai runsaan nesteenpoistolääkityksen takia. (Uotila 2010, 103-104.) Hypokalemia voi aiheuttaa mm. lihasheikkoutta ja sydämen rytmihäiriöitä (Klutts & Scott 2008, 660). Korkea kaliumpitoisuus eli hyperkalemia voi johtua mm. kudonsvaurioista, munuaisten vajaatoiminnasta tai kuivumisesta (Penttilä 2004b, 158; Uotila 2010, 104). Oireina voi esiintyä sekavuutta, heikkoutta, hengitysvaikeuksia ja perifeerisen verenkierron ongelmia (Klutts & Scott 2008, 660).

Kaliumpitoisuuden määrittämiseen plasmanäyte on luotettavampi kuin seerumi tai kokoveri (Scott ym. 2008, 433; Uotila 2010, 94). Näytteenotossa ja käsittelyssä pitää varoa hemolyyysiä eli punasolujen rikkoutumista. Solunsisäisen kaliumin pääsy plasmaan aiheuttaa virheellisen korkean tuloksen. (Scott ym. 2008, 433.) Näytettä säilytettäessä kokoverenä hemolyyysin riski kasvaa. Myös säilytyslämpötila voi vaikuttaa plasman kaliumpitoisuuteen, viileässä säilyttäminen estää natrium-kaliumpumpun toimintaa, jolloin plasman kaliumpitoisuus nousee. (Odoze ym. 2012, 466-467.)

Viitearvot kaliumpitoisuuksille ovat 4, 7, 10 ja 13-vuotiaille 3.4–4.4 mmol/l, aikuisille 3.3–4.8 mmol/l ja yli 65-vuotiaille 3.5–4.8 mmol/l. Eroteltu plasmanäyte lähetetään analysoitavaksi huoneenlämpöisenä ja se säilyy jääkaapissa 2–3 vuorokautta. (Tykslab 2013.)

2.5.4 Natrium

Natrium on toinen elimistölle tärkeä kationi. Elimistön natriumista lähes 60 % esiintyy nesteissä, loput natriumista on luustossa pääosin kidemuodossa. Nesteissä olevasta natriumista noin 97 % on solunulkoisessa tilassa, vain pieni osa natriumista on solun sisällä, päinvastoin kuin kalium. Natrium-kaliumpumppu kuljettaa natriumia ulos soluista tämän pitoisuussuhteen säilyttämiseksi (Uotila 2010, 96, 101.) Natriumilla on suurin vastuu plasman ja soluvälinesteen osmo-

lalteetista ja veden jakautumisesta solunulkoisiin tiloihin (Penttilä 2004b, 156; Scott ym. 2008, 432). Natriumia saadaan ravinnosta ja se erittyy pääasiassa munuaisten kautta, mutta osaksi myös muiden nesteiden kuin virtsan mukana (Uotila 2010, 101).

Alhainen natriumpitoisuus eli hyponatremia voi johtua mm. liian vähäisestä saannista tai liiallisesta menetyksestä esim. oksentelun, palovammojen tai pitkäaikaisen nesteenpoistolääkityksen takia. Hyponatremia voi johtua myös elimistön liiallisesta nestemäärästä natriumiin nähden esim. runsaan nesteytyksen johdosta. (Penttilä 2004b, 157; Uotila 2010, 101-102.) Hyponatremian oireina esiintyy pahoinvointia, yleistä heikkoutta ja sekavuutta (Klutts & Scott 2008, 657). Hypernatremia voi johtua mm. elimistön kuivumisesta tai natriumin erityksen vähenemisestä esim. sydämen tai munuaisten vajaatoiminnan takia (Uotila 2010, 102). Oireet ovat pääasiassa neurologisia, kuten vapina, liikkeiden koordinaation häiriöt ja sekavuus (Klutts & Scott 2008, 659).

Näytettä säilytettäessä tulee huomioida säilytyslämpötilan vaikutus natriumkaliumpumpun toimintaan kuten kaliuminkin kohdalla. Viileässä säilyttäminen voi laskea natriumpitoisuutta plasmassa. (Odoze ym. 2012, 467.) Natriumpitoisuus määritetään hepariiniplasmasta. Viitearvot pitoisuuksille ovat alle 30 päivän ikäisille 135–144 mmol/l, 4, 7, 10 ja 13-vuotiaille 139–146 mmol/l ja aikuisille 137–144 mmol/l. Eroteltu plasmanäyte lähetetään analysoitavaksi huoneenlämpöisenä, mikäli se on perillä vuorokauden kuluessa. Jääkaapissa plasmanäyte säilyy 2–3 vuorokautta. (Tykslab 2013.)

2.6 Analyysimenetelmät

Tässä opinnäytetyössä käytetyn analysaattorin Konelab 60i:n alaniiniaminotransferaasin määrittäminen perustuu entsyymiaktiivisuuden mittaamiseen. Tähän käytetään näytteessä olevan entsyymin aikaansaaman reaktion nopeuden seuraamista. Näytteessä oleva ALAT katalysoi kahden reagenssina lisättävien substraatin eli lähtöaineen muuttumista lopputuotteiksi saamalla aikaan aminoryhmän siirtymisen toiselta substraatilta toiselle. (Thermo Scientific 2011a.) Vir-

heellisen matalien tulosten ehkäisemiseksi ALAT aktivoidaan pyridoksaalifosfaatin avulla (Thermo Scientific 2007). Syntyneistä lopputuotteista pyruvaatti muuttuu edelleen laktaatiksi reaktiossa, jossa reagenssina lisättävä koentsyymi NADH samaan aikaan hapettuu muuttuen NAD:ksi. NADH:n vähenemistä mitataan kineettisesti eli ajan funktiona määrittämällä sen absorbanssin pienenemistä fotometrisesti aallonpituudella 340 nm. NADH:n määrän väheneminen ja sen absorbanssin pieneneminen ovat suoraan verrannollisia näytteen ALAT:n entsyymiaktiivisuuteen. Analysaattori laskee tuloksen automaattisesti ja ilmoittaa sen aktiivisuutena U/l. (Thermo Scientific, 2011a.)

Entsyymiaktiivisuuden yksikkö U on se entsyymimäärä, joka katalysoi eli muuttaa yhden mikromoolin substraattia minuutin aikana. Entsyymiaktiivisuuteen vaikuttavat monet tekijät, jotka pitää vakioda määrityksiä tehdessä. Substraatin määrän pitää olla riittävä, ettei sen loppuminen kesken vaikuta reaktioon. Reaktioliuoksen pH:n pitää olla juuri mitattavalle entsyymille sopiva. Samoin lämpötilan pitää olla vakioitu, muutos vaikuttaa merkittävästi reaktionopeuteen. Reaktiot vaativat myös juuri tiettyjä reaktion tapahtumiselle välttämättömiä aineita eli koentsyymejä, kuten esim. NADH. Lisäksi tarvitaan yhdisteitä kuten pyridoksaalifosfaatti inaktiivisen entsyymin aktivoimiseen. (Penttilä 2004c, 82-84; Åkerman & Jokela 2010, 67-69.)

Glukoosipitoisuuden määrittämiseen Konelab 60i käyttää heksokinaasientsyymien käyttöön perustuvaa menetelmää. Näytteessä oleva glukoosi fosforyloidaan reagenssina lisättävän heksokinaasin katalysoimassa reaktiossa. Syntynyt glukoosi-6-fosfaatti hapetetaan edelleen reaktiossa, jossa reagenssina lisättävä NAD-koentsyymi samanaikaisesti pelkistyy NADH:ksi. Syntyneen NADH:n määrä mitataan fotometrisesti määrittämällä sen absorbanssi aallonpituudella 340 nm. Analysaattori laskee glukoosipitoisuuden kalibraatiosuoran avulla ja ilmoittaa sen mmol/l. (Thermo Scientific 2011b.)

Elektrolyyttien eli kaliumin ja natriumin määrittämiseen Konelab 60i käyttää ioniselektiivisiä elektrodeja. Jokaiselle ionille on oma elektrodinsa, jossa on vain sitä ionia läpäisevä väliaine eli membraani. Konelab 60i:n käyttämä menetelmä on suora eli näytettä ei laimenneta ennen mittausta. Näytteessä olevien mitatta-

vien ionien reagoidessa selektiivisen elektrodin kanssa muodostuu jännite, jota verrataan referenssi- eli vertailuelektrodin jännitteeseen. Analysaattori muuttaa syntyneen jännite-eron pitoisuudeksi mmol/l kalibraatiosuoran avulla. (Thermo Scientific 2008.)

3 TAVOITE JA TARKOITUS

Opinnäytetyön tavoitteena on selvittää postitse lähetetyistä plasmanäytteistä analysoitujen tutkimustulosten oikeellisuutta ja näin osaltaan parantaa potilaiden saamaa palvelua ja hoitoa. Tavoitteena on myös auttaa selvittämään Tyks-lab os. 183:n ja sinne näytteitä postitse lähettävien yksiköiden nykyisen kuljetuskäytännön toimivuutta tutkimustulosten näkökulmasta.

Tarkoituksena on tutkia postitukseen kuluvan ajan ja eri lämpötiloille altistumisen vaikutusta neljän kliinisen kemian analyytin tuloksiin.

Tutkimusongelmat:

- Vaikuttaako pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä tutkittujen analyyttien tuloksiin erotellussa plasmanäytteessä?
- Vaikuttaako pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkasella (-20 °C) altistumisen kanssa tutkittujen analyyttien tuloksiin erotellussa plasmanäytteessä?
- Vaikuttaako pidentynyt säilytysaika yhdessä lämmölle (+37 °C) altistumisen kanssa tutkittujen analyyttien tuloksiin erotellussa plasmanäytteessä?

4 TOTEUTUS

4.1 Metodiset ratkaisut

Tämän opinnäytetyön metodiksi valittiin kvantitatiivinen tutkimus ja se suoritettiin vertailevana poikittaistutkimuksena. Kvantitatiivisella tutkimuksella voidaan tutkia luonteeltaan toistuvia ilmiöitä (Uusitalo 1998, 79-80). Tutkimuksessa mitataan eri muuttujia numeerisessa muodossa ja tarkastellaan näiden yhteyksiä ja riippuvuuksia toisiinsa tilastollisin menetelmin (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 41). Kvantitatiiviselle tutkimukselle on tyypillistä tarkoin rajattu aineisto sekä vaiheittain eteneminen. Aineiston kerääminen, sen muokkaaminen sekä lopulta tilastollinen käsittely ovat toisistaan erottuvia vaiheita. (Uusitalo 1998, 80-81.) Kvantitatiivisen tutkimuksen sisäistä luotettavuutta arvioidaan sen validiteetilla ja reliabiliteetilla. Validiteetti kertoo onko tutkimuksessa mitattu juuri haluttua asiaa, kun taas reliabiliteetti kertoo ovatko tulokset pysyviä ja toistettavia eivätkä sattumanvaraisia. Ulkoisen luotettavuuden mittari on otoksen edustavuus, se voidaanko saatuja tuloksia yleistää perusjoukkoon. (Uusitalo 1998, 84-86; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 152-159.)

Kvantitatiivisia tutkimuksia voidaan luokitella eri tavoin. Vertailevassa tutkimuksessa verrataan eri muuttujia toisiinsa ja vertailun tuloksille voidaan asettaa hypoteesit eli olettamukset. Tilastollista hypoteesia kutsutaan nollahypoteesiksi, joka olettaa, ettei muuttujien välillä ole eroa. Vastahypoteesi taas olettaa muuttujien välillä olevan eroa. Tutkimuksen tulosten tilastollinen merkitsevyys määrittää kumpi hypoteesi jää voimaan. (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 44, 102.) Poikittaistutkimus tarkoittaa tutkimusaineiston keräämistä vain kerran, jolloin tutkitaan muuttujien ominaisuuksia yhtenä ajankohtana eikä ilmiötä seurata ajan kuluessa (Uusitalo 1998, 74; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 42).

Opinnäytetyö suoritettiin otantatutkimuksena, jossa perusjoukkona toimi Tykslab os.183:lla analysoitavat litiumhepariiniplasmanäytteet. Työhön valitut ha-

vaintoyksiköt valittiin satunnaisotannalla. Otantatutkimuksessa valitaan perusjoukkoa edustamaan havaintoyksikköjen muodostama otos sen sijaan että tutkittaisiin koko perusjoukko. Perusjoukko on havaintoyksiköiden muodostama joukko, jonka ominaisuuksia halutaan tutkia ja johon saadut tulokset halutaan yleistää. Valitun otoksen tulee edustaa perusjoukkoa mahdollisimman hyvin, jotta tuloksia voidaan käyttää yleistykseen. Satunnaisotoksessa havaintoyksiköt valitaan otokseen arpomalla. Tällöin valituilla havaintoyksiköillä on kaikilla yhtä suuri todennäköisyys tulla valituksi otokseen. (Uusitalo 1998, 70-72; Holopainen & Pulkkinen 2008, 29-32; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 79-80.) Otoksoon tulisi olla mahdollisimman suuri, jolloin virhemahdollisuus olisi mahdollisimman pieni. Otoksoon valintaan vaikuttavat myös yhtäaikaaisesti tutkittavien muuttujien määrä ja haluttu mittaustarkkuus. (Uusitalo 1998, 73; Holopainen & Pulkkinen 2008, 37-38.) Otoksen kokoa rajoittavia tekijöitä ovat tutkimuskustannukset, aika sekä hallittavuus (Holopainen & Pulkkinen 2008, 38). Tämän opinnäytetyön otoskoko $n = 50$.

4.2 Käytännön toteutus

Opinnäytetyölle saatiin tutkimuslupa Tykslabin ylihoitajalta 27.12.2012. (Liite 1.) Käytännön toteutus suoritettiin Tykslab osasto 183 Loimaalla 22.-23.1.2013. Lupa tutkimuksen suorittamiseen kyseisessä laboratoriossa oli saatu kemistiltä ja hallinnolliselta osastonhoitajalta 12.9.2012. Tutkimusaineistona käytettiin Loimaan aluesairaalan potilaista 22.1.2013 litiumhepariinigeeliputkiin otettuja plasmanäytteitä. Perusjoukosta valittiin satunnaisotoksena 50 näytettä. Otoksen näytteet oli otettu klo 7.00–8.50 välisenä aikana laboratorion henkilökunnan toimesta. Otosta valitessa silminnähden hemolyytiset, lipeemiset ja ikteeriset näytteet hylättiin.

Laboratorion henkilökunta käsitteli näytteet ennen analysointia. Näytteet sentrifugoitiin 15–60 minuutin kuluessa näytteenotosta, 10 minuuttia, 2500 G +20 °C:ssa. Laboratorion henkilökunta analysoi näytteistä pyydetyt tutkimukset

ja tulosten valmistuttua luovutti putket käytettäväksi opinnäytetyöhön. Otokseen valituksi tulleet näytteet numeroitiin juoksevilla numeroilla 1–50.

Opinnäytetyön näytteet määritettiin Thermo Clinical Labsystems'in Konelab 60i –analysaattorilla, sarjanumero L3317805. Analysaattoria käytettiin sen työohjeiden mukaisesti. Edellisellä viikolla ennen tutkimuksen suoritusta analysaattori kalibroitiin tutkimukseen valittujen analyyttien suhteen. Tutkimuspäivinä analysaattorille tehtiin päivittäiset huoltotoimenpiteet sekä 22.1.2013 vaihdettiin uudet reagenssit, joita käytettiin koko tutkimuksen ajan. Tutkimuksessa käytetyt kontrollit olivat DayTrol DT12 ja PreciControl ClinChem Multi 2, jotka liuotettiin 22.1.2013 ennen analysointia. Samoja kontrollipulloja käytettiin koko tutkimuksen ajan. Kontrollit analysointiin kuten potilasnäytteet, ne ajettiin jokaisen 50 näytteen sarjan alussa ja lopussa sekä kahdesti sarjan sisällä.

Opinnäytetyön tekijä analysoi näytteenottopäivänä otoksen näytteistä kaikki neljä analyyttiä, P-ALAT, P-Gluk, P-K ja P-Na primaariputkista. Näytteen no 19 P-ALAT osoittautui korkeaksi, luotettava tulos saatiin laimentamalla näyte 1:50:een. Muuten analysointi onnistui normaalisti. Analysoinnin jälkeen primaariputkista eroteltiin pipetoimalla 400 µl plasmaa kolmen erotteluputkeen jokaisesta näytteestä. Erotteluputket suljettiin ja merkittiin tunnistusnumeroilla sekä kirjainkoodeilla.

Yhden sarjan erotteluputket säilytettiin seuraavaan päivään pimeässä ja huoneenlämmössä (22,0–23,4 °C). Toisen sarjan putket altistettiin pakkaselle pitämällä niitä pakastimessa (17,4–21,2 °C) 1 tunti 20 minuuttia, jonka jälkeen plasma putkissa oli jäätynyt. Muun ajan niitä säilytettiin huoneenlämmössä. Kolmannen sarjan putket altistettiin lämmölle pitämällä niitä lämpökaapissa (36–38 °C) samoin 1 tunti 20 minuuttia, muuten niitä säilytettiin huoneenlämmössä.

Näytteenottoa seuraavana päivänä 23.1.2013 erotteluputkista analysoitiin samat analyytit kuin näytteenottopäivänä. Lyhin aika analyysien välillä oli 26 tuntia jäljitellen postitukseen ja näytteiden käsittelyyn kuluva aikaa. Ensimmäisenä analysoitiin koko ajan huoneenlämmössä säilytetty sarja. Ennen analysointia erotteluputket sekoitettiin ja sentrifugoitiin 10 minuutin ajan 2500G:ssä ja +20

°C:ssa. Plasmaa pipetoitiin erotteluputkista näytekuppeihin 300 µl, koska analyssaattori ei pystynyt pipetoimaan näytettä suoraan erotteluputkista. Ensimmäisen sarjan analyysien valmistuttua sekoitettiin, sentrifugoitiin, pipetoitiin ja analysoitiin pakkaselle altistettu sarja ja tämän sarjan valmistuttua tehtiin sama lämmölle altistetulle sarjalle. Analysoidut näytteet hävitettiin laboratorion käytännön mukaisesti.

Näytteenottoa seuraavana päivänä analysoinnit onnistuivat normaalisti. Ainoana poikkeuksena oli jälleen näytteen no 19 P-ALAT, joka laimennettiin kuten edellisenäkin päivänä luotettavien tulosten saamiseksi. Kaikki kontrollit olivat molempina tutkimuspäivinä analysaattorin edellyttämien ± 2 SD:n rajoissa. (Liite 3.) Kaikki tulokset tulostettiin tilastollista vertailua varten. (Liite 2.)

5 TULOKSET

Saadut tulokset syötettiin ensin Excel-ohjelmaan ja siitä edelleen SPSS Statistics 20 –ohjelmaan, jolla tulokset käsiteltiin. Tulokset käsiteltiin sarjoina jokaisen neljän analyysin kohdalla erikseen. Näytteenottopäivänä analysoidut tulokset (nopv) toimivat ns. nollatuloksina, joihin muita sarjoja verrattiin. Muut sarjat olivat huoneenlämmössä säilytetyt näytteet (RT), pakkaselle altistettut näytteet (-20 °C) ja lämmölle altistettut näytteet (+37 °C). Näytteen numero 19 P-ALAT tulokset poikkesivat muiden näytteiden P-ALAT tuloksista ollen huomattavasti korkeampia. Selvästi poikkeava tulos vaikeuttaa tulosten käsittelyä tilastollisesti ja saattaa aiheuttaa vääristymiä, joten näytteen no 19 P-ALAT tulokset päätettiin jättää pois tuloksia käsiteltäessä.

Vertaamalla eri sarjojen tuloksia nollatuloksiin haettiin vastauksia tutkimusongelmiin. Vastauksia näihin ongelmiin on mahdollista ennakoida esim. teorian tai aikaisempien tutkimusten perusteella (Heikkilä 2008, 189-190; Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009, 158). Näiden olettamusten eli hypoteesien todenperäisyyttä tutkitaan tilastollisten menetelmien avulla. Perusolettamus eli nollahypoteesi H_0 on voimassa kunnes toisin todistetaan, jolloin vastahypoteesi H_1 astuu voimaan. (Heikkilä 2008, 189-192; Holopainen & Pulkkinen 2008, 175-176.)

Tämän opinnäytetyön hypoteesit olivat:

- H_0 : Erotellun plasmanäytteen pidentynyt säilytysaika yhdessä eri lämpötiloille altistumisen kanssa ei vaikuta analyyttien tuloksiin.
- H_1 : Erotellun plasmanäytteen pidentynyt säilytysaika yhdessä eri lämpötiloille altistumisen kanssa vaikuttaa analyyttien tuloksiin.

Sarjoille määriteltiin tunnusluvuista keskiarvo, keskihajonta, mediaani, vaihteluväli eli minimi ja maksimi sekä ala- ja yläkvartiilit. Tunnuslukujen avulla voidaan tilastollisista muuttujista tehdä objektiivisia tulkintoja sekä johtopäätöksiä (Holopainen & Pulkkinen 2008, 78). Keskihajonta kuvaa yksittäisten arvojen etäisyyttä keskiarvosta. Mediaani kertoo suuruusjärjestykseen asetettujen arvojen kes-

kimmäisen arvon. (Vilkkä 2007, 122, 124; Heikkilä 2008, 84, 86.) Kvartiilit jakavat arvot yhdessä mediaanin kanssa neljään osaan. Alakvartiili kertoo arvon, jota pienempiä on 25 % kaikista arvoista. Yläkvartiili puolestaan kertoo arvon, jota pienempiä on 75 % arvoista. (Heikkilä 2008, 84-85.)

Sarjojen vertailuun käytettiin Wilcoxonin testiä, Pearsonin korrelaatiokerrointa sekä parierojen t-testiä. Wilcoxonin testi on jakaumasta riippumaton testi, jolla verrataan tilastoyksiköiden kahden eri mittauskerran eroa (Holopainen & Pulkkinen 2008, 198). Pearsonin korrelaatiokertoimella mitataan muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Korrelaatiokertoimen r arvo vaihtelee välillä -1 ja $+1$. Muuttujien lineaarinen yhteys on sitä voimakkaampi, mitä lähempänä kertoimen itseisarvo on lukua 1. (Heikkilä 2008, 203-204; Holopainen & Pulkkinen 2008, 234.) T-testillä testataan kahden ryhmän keskiarvojen eroa, onko se todellista vai satunnaisvaihtelusta johtuvaa. Hylkäämisvirheen todennäköisyys eli p -arvo kertoo vastahypoteesin virheellisyyden todennäköisyyden. Merkitsevyystasona opinnäytetyössä käytettiin 5 %:a. Tämä tarkoittaa, että kun $p < 0,05$ nollahypoteesi hylätään ja vastahypoteesi astuu voimaan. (Heikkilä 2008, 194-195, 230.)

Sarjojen normaalijakaumaoletukset testattiin Kolmogorov-Smirnov testillä. Kaikki muut sarjat noudattivat normaalijakaumaa paitsi P-ALAT:in lämmölle altistettu sarja. Koska sekä Pearsonin korrelaatiokerroin että t-testi edellyttävät tulosten normaalijakaumaa, käytettiin lämmölle altistuneen P-ALAT-sarjan tulosten testaamiseen Spearmanin järjestyskorrelaatiokerrointa r_s ja Wilcoxonin testiä (Heikkilä 2008, 203, 230).

Tilastollisen vertailun lisäksi tutkittiin saavuttivatko RT-sarjan, -20 °C -sarjan ja $+37\text{ °C}$ -sarjan tulokset Labquality Oy:n laatutavoitetyöryhmän laatimat analyytiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoitteet verrattuna nopv-sarjan tuloksiin.

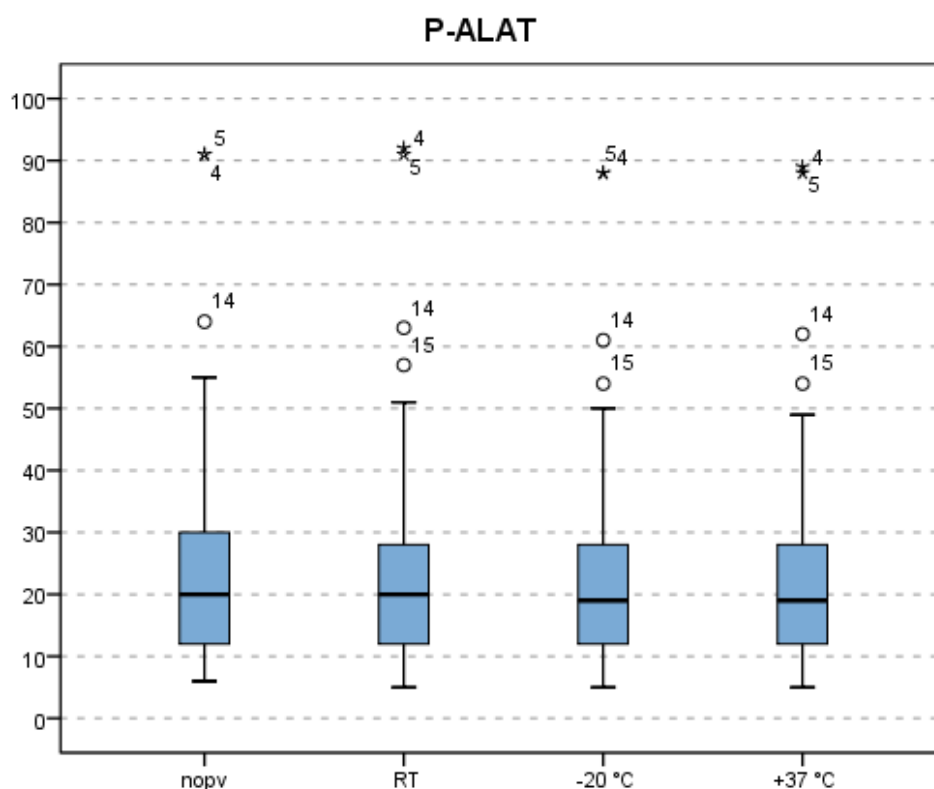
5.1 Alaniiniaminotransferaasi

P-ALAT-sarjojen tunnusluvut esitetään taulukossa 2. Tunnuslukuista nähdään pakkaselle ja lämmölle altistuneiden sarjojen tulosten olevan matalampia verrattuna nopv-sarjan tuloksiin. Keskiarvot, mediaanit sekä maksimitulokset ovat

matalampia keskihajonnan puolestaan ollessa pienempi kuin nopv-sarjassa. P-ALAT-sarjojen tulosten jakaantuminen havainnollistetaan laatikkojanakuviona kuviossa 2.

Taulukko 2. P-ALAT-sarjojen tulosten tunnusluvut.

P-ALAT				
	nopv	RT	-20 °C	+37 °C
n	49	49	49	49
Keskiarvo	25,0	24,7	24,0	24,2
Mediaani	20,0	20,0	19,0	19,0
Keskihajonta	19,4	19,4	18,6	18,7
Minimi	6	5	5	5
Maksimi	91	92	88	89
Kvartiilit	25 %	12	12	12
	75 %	31	30	29



Kuvio 2. P-ALAT-sarjojen tulokset laatikkojanakuviolina.

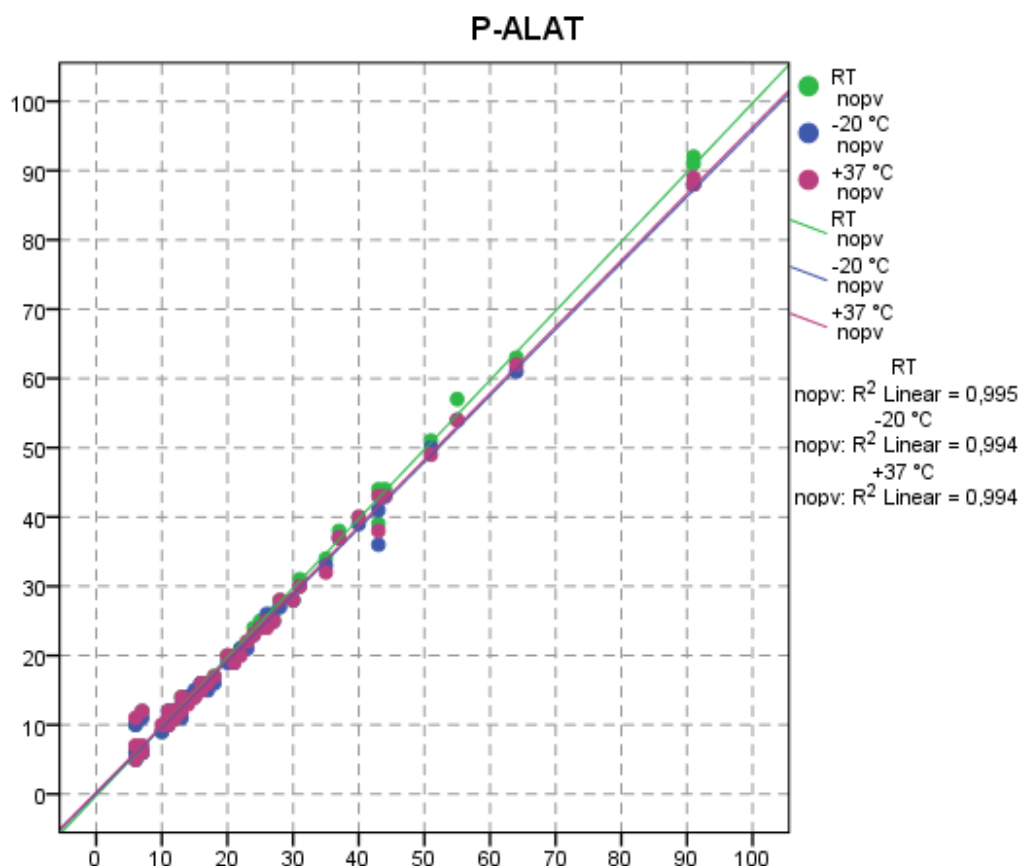
Wilcoxonin testin tuloksena RT-sarjan tuloksissa on hajontaa nopv-sarjan tuloksiin nähden. Noin puolet RT-sarjan tuloksista on matalampia ja kahdeksan tuloksista on korkeampia kuin nopv-sarjassa, jäljelle jääneet 17 tulosta ovat molemmissa sarjoissa yhtä suuria. -20 °C-sarjan tuloksista suurin osa eli 34 tulosta oli matalampia, 13 tulosta oli yhtä suuria ja kolme tulosta oli korkeampia kuin nopv-sarjan tulokset.

Lämmölle altistetun +37 °C-sarjan tuloksista 32 oli matalampia kuin nopv-sarjan tulokset. Sama tulos molemmilla mittauskerroilla oli 12 näytteellä. Viiden näytteen tulos oli korkeampi +37 °C-sarjassa kuin nopv-sarjassa. Tulokset olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). H_0 hylättiin ja H_1 astui voimaan eli pidentynyt säilytysaika yhdessä lämmölle altistumisen kanssa vaikutti P-ALAT-tuloksiin. Wilcoxonin testin +37 °C-sarjan tulokset esitellään taulukossa 3.

Taulukko 3. P-ALAT:in +37 °C-sarjan tulosten Wilcoxonin testin tulokset.

	n	Mean Rank
+37 °C < nopv	32	18,59
+37 °C > nopv	5	21,60
+37 °C = nopv	12	
Yhteensä	49	

Pearsonin korrelaatiokerroin r P-ALAT:in nopv-sarjan ja RT-sarjan välillä oli 0,998 ja nopv-sarjan ja -20 °C-sarjan välillä 0,997. Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin r_s nopv-sarjan ja +37 °C-sarjan välillä oli 0,987. Tämä tarkoittaa positiivisen lineaarisen korrelaation olleen voimakas kaikissa vertailuissa. Näytteenottopäivänä saadut matalat tulokset olivat matalia myös seuraavan päivän sarjoissa, samoin korkeat tulokset olivat korkeita molempina tutkimuspäivinä. Korrelaatiot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Kuviossa 3 esitetään korrelaatiot sirontakuvinäytteinä sekä regressiosuorat.



Kuvio 3. P-ALAT-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviolina sekä regressiosuorat.

T-testin tuloksena nopv-sarjan ja RT-sarjan välinen ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ($p=0,214$). H_0 jäi voimaan eli pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä ei vaikuttanut P-ALAT-tuloksiin. Nopv-sarjan ja -20 °C-sarjan välillä ero oli tilastollisesti merkitsevä ($p<0,001$). H_0 hylättiin ja H_1 astui voimaan, pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkaselle altistumisen kanssa vaikutti P-ALAT-tuloksiin.

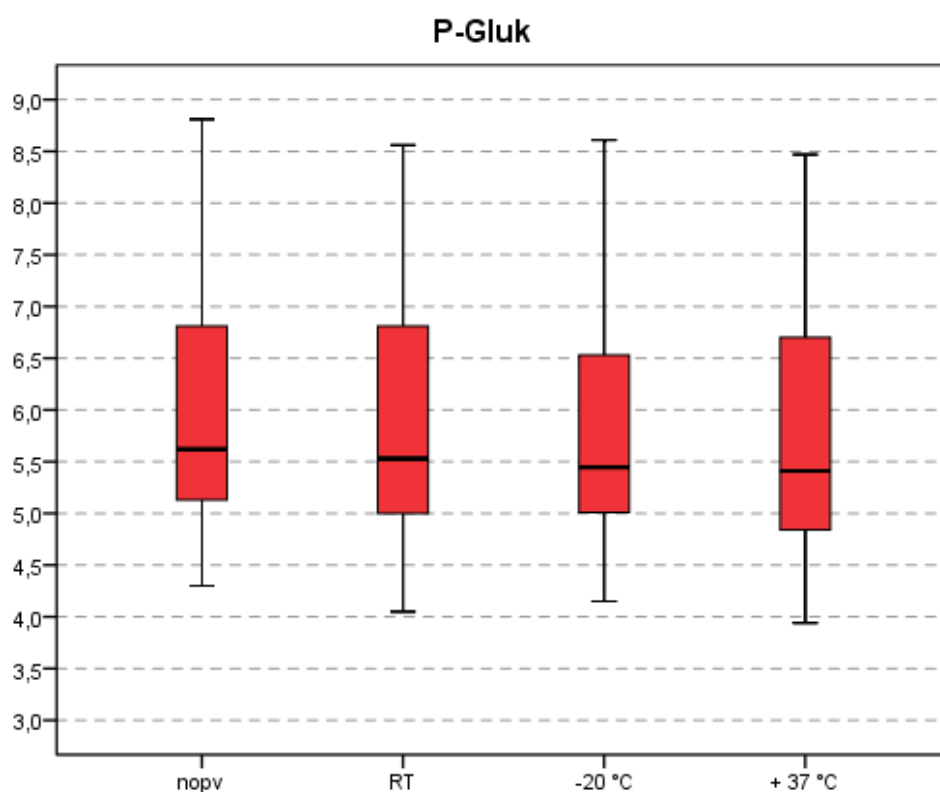
5.2 Glukoosi

P-Gluk-sarjojen tunnusluvut esitetään taulukossa 4. Keskiarvoista ja mediaaneista sekä vaihteluväleistä nähdään kaikkien säilytettyjen sarjojen tulostason olevan matalampi kuin nopv-sarjassa. RT-sarjan tulokset ovat lähimpänä nopv-sarjan tuloksia, +37 °C-sarjan tulokset ovat kaikkein matalimpia. Keskihajonta

eri sarjoissa on miltei sama. P-Gluk-sarjojen tulosten jakaantuminen on havainnollistettu kuviossa 4.

Taulukko 4. P-Gluk-sarjojen tulosten tunnusluvut.

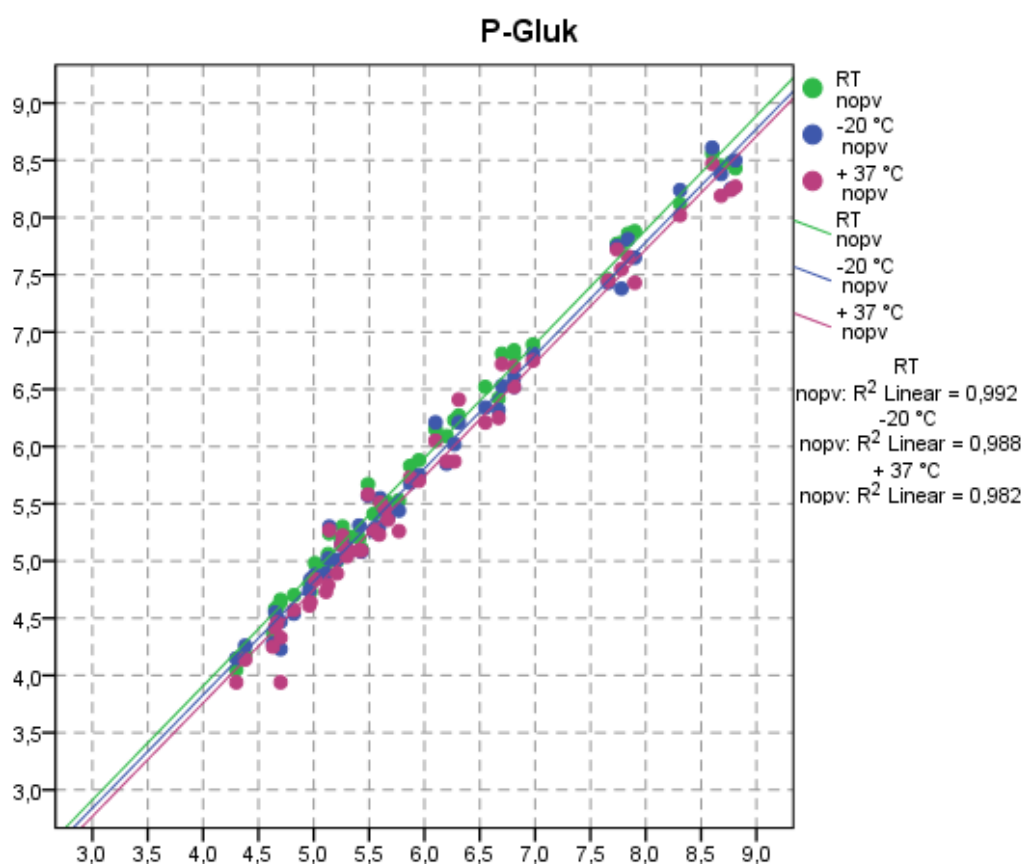
		P-Gluk			
		nopv	RT	-20 °C	+ 37 °C
n		50	50	50	50
Keskiarvo		6,06	5,96	5,87	5,80
Mediaani		5,62	5,53	5,45	5,41
Keskihajonta		1,28	1,28	1,27	1,28
Minimi		4,3	4,1	4,2	3,9
Maksimi		8,8	8,6	8,6	8,5
Kvartiilit	25 %	5,1	5,0	5,0	4,8
	75 %	6,8	6,8	6,5	6,7



Kuvio 4. P-Gluk-sarjojen tulokset laatikkojanakuvioina.

Wilcoxonin testin tuloksena suurin osa eli yli 40 tulosta kaikissa säilytetyissä sarjoissa oli matalampia kuin nopv-sarjan tulokset. Eniten matalampia tuloksia oli +37 °C-sarjassa.

Pearsonin korrelaatiokerroin r oli nopv-sarjan ja RT-sarjan välillä 0,996, nopv-sarjan ja -20 °C-sarjan välillä 0,994 sekä nopv-sarjan ja +37 °C-sarjan välillä 0,991. Positiivinen lineaarinen korrelaatio oli kaikkien vertailujen välillä voimakas. Korrelaatiot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Kuviossa 5 esitetään korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.



Kuvio 5. P-Gluk-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.

T-testien tuloksina kaikkien vertailuparien erot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Kaikkien vertailujen osalta H_0 hylättiin ja H_1 astui voimaan. Pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä, pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkasella

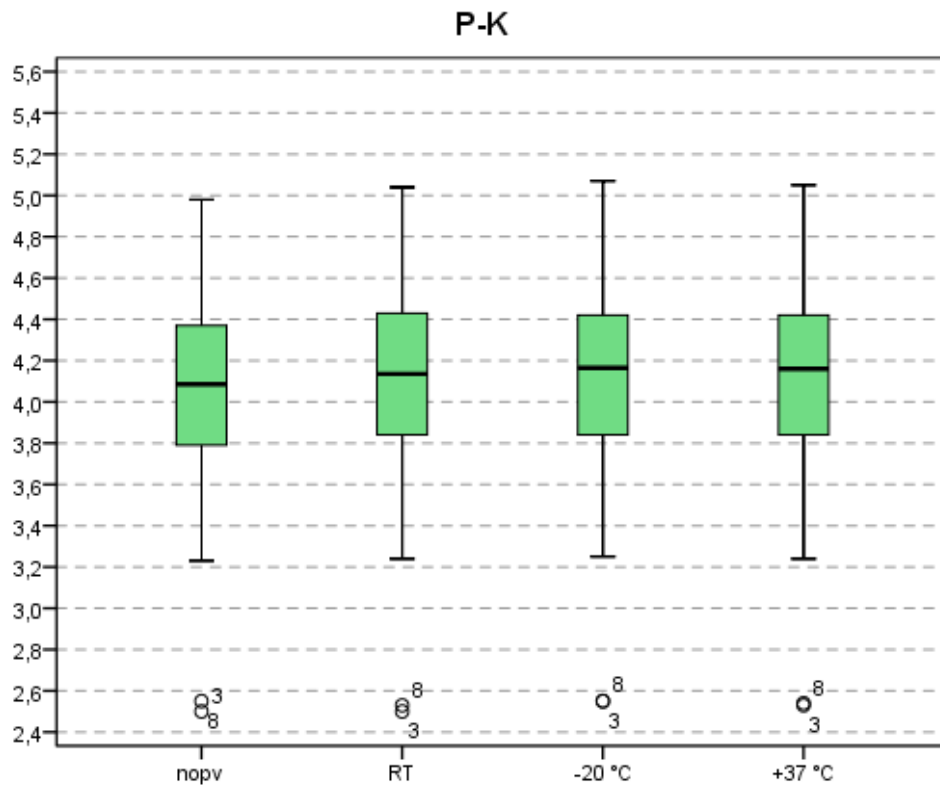
altistumisen kanssa sekä yhdessä lämmölle altistumisen kanssa vaikuttivat P-Gluk-tuloksiin.

5.3 Kalium

P-K-sarjojen tunnusluvut nähdään taulukossa 5. Keskiarvoista ja mediaaneista nähdään säilytettyjen sarjojen tulostason hieman nousseen verrattuna nopv-sarjaan. Keskihajonta sarjoissa on miltei sama. Pakkaselle ja lämmölle altistuneiden sarjojen tulokset ovat hieman korkeammat kuin RT-sarjan. P-K-sarjojen tulosten jakaantuminen havainnollistetaan kuviossa 6.

Taulukko 5. P-K-sarjojen tulosten tunnusluvut.

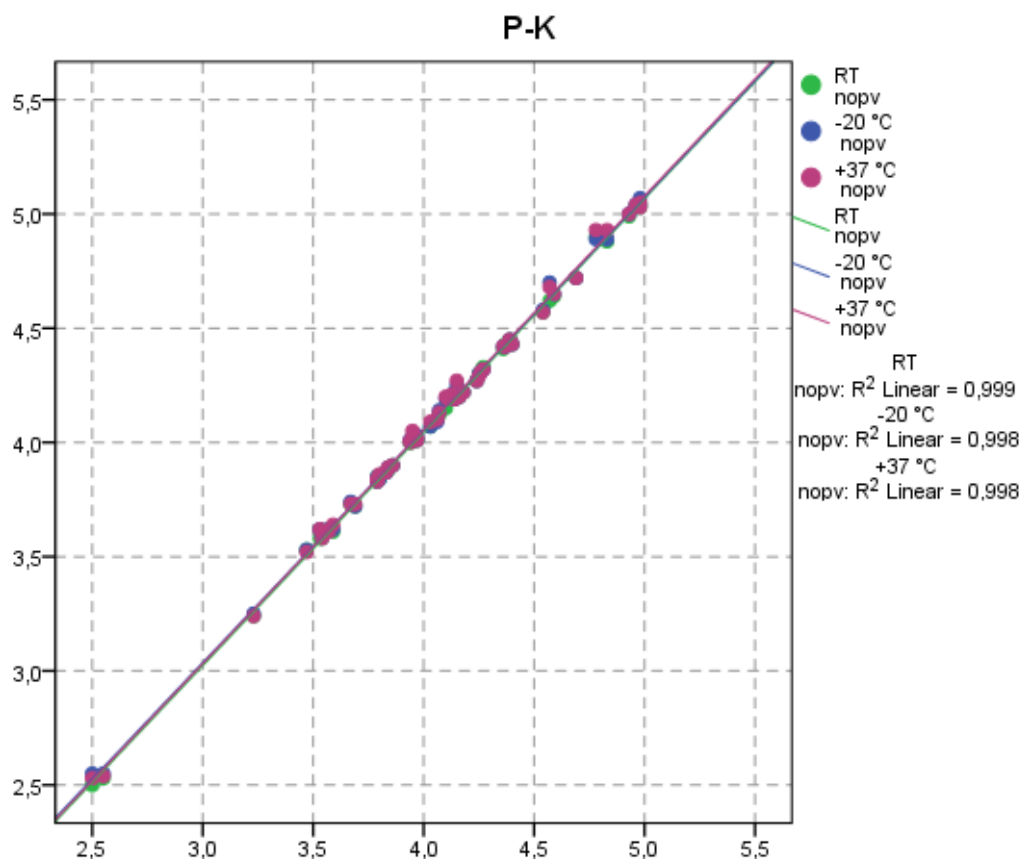
		P-K			
		nopv	RT	-20 °C	+37 °C
n		50	50	50	50
Keskiarvo		4,07	4,11	4,12	4,12
Mediaani		4,09	4,14	4,17	4,16
Keskihajonta		0,53	0,54	0,54	0,54
Minimi		2,5	2,5	2,6	2,5
Maksimi		5,0	5,0	5,1	5,1
Kvartiilit	25 %	3,8	3,8	3,8	3,8
	75 %	4,4	4,4	4,4	4,4



Kuvio 6. P-K-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.

Wilcoxonin testin tuloksena säilytettyjen sarjojen 50 tuloksesta 48-49 sarjaa kohden on korkeampia kuin nopv-sarjan.

Pearsonin korrelaatiokerroin oli nopv-sarjan ja RT-sarjan välillä 1,000. Nopv-sarjan ja -20 °C-sarjan sekä nopv-sarjan ja +37 °C-sarjan väliset korrelaatiokerroimet olivat 0,999. Positiiviset lineaariset korrelaatiot olivat kaikissa vertailuissa voimakkaat. Korrelaatiot olivat tilastollisesti merkitsevät ($p < 0,001$). Kuviossa 7 esitetään korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.



Kuvio 7. P-K-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.

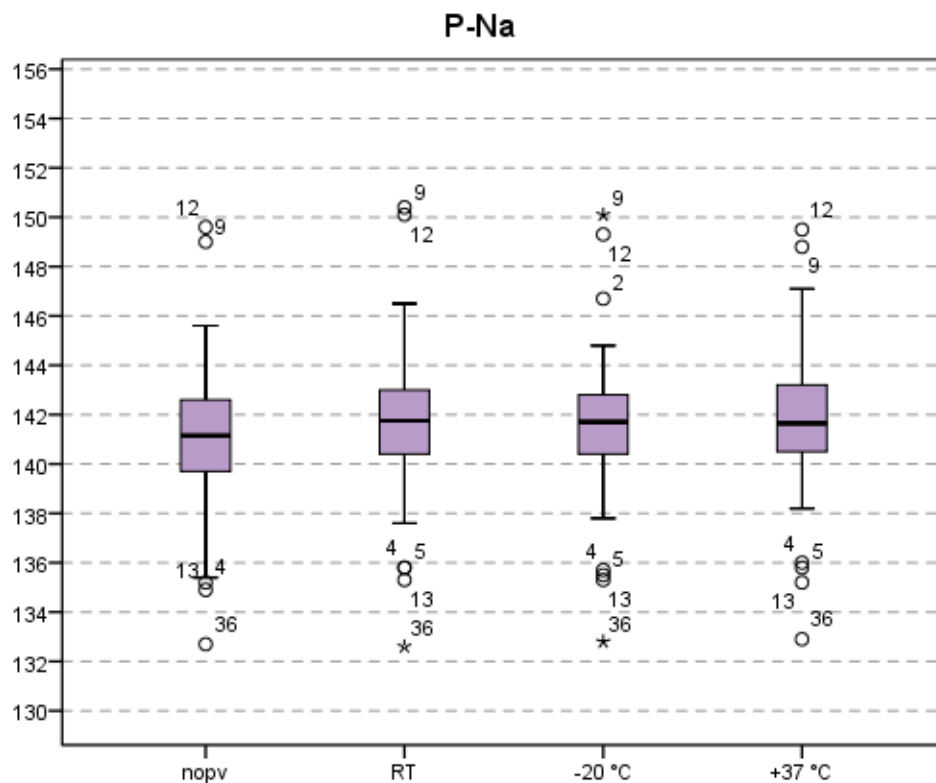
T-testien tuloksina kaikkien vertailuparien erot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Kaikkien vertailujen osalta H_0 hylättiin ja H_1 astui voimaan. Pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä, pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkasella altistumisen kanssa sekä yhdessä lämmölle altistumisen kanssa vaikuttivat P-K-tuloksiin.

5.4 Natrium

P-Na-sarjojen tunnusluvut esitetään taulukossa 6. Keskiarvoista ja mediaaneista nähdään säilytettyjen sarjojen tulostason nousu nopv-sarjaan verrattuna. Säilytettyjen sarjojen tulokset ovat keskenään miltei samat. Keskihajonta kaikissa sarjoissa on lähes sama, vaihteluväli sarjoissa on aivan sama. P-Na-sarjojen tulokset esitetään laatikkojanakuviaina kuviossa 8.

Taulukko 6. P-Na-sarjojen tulosten tunnusluvut.

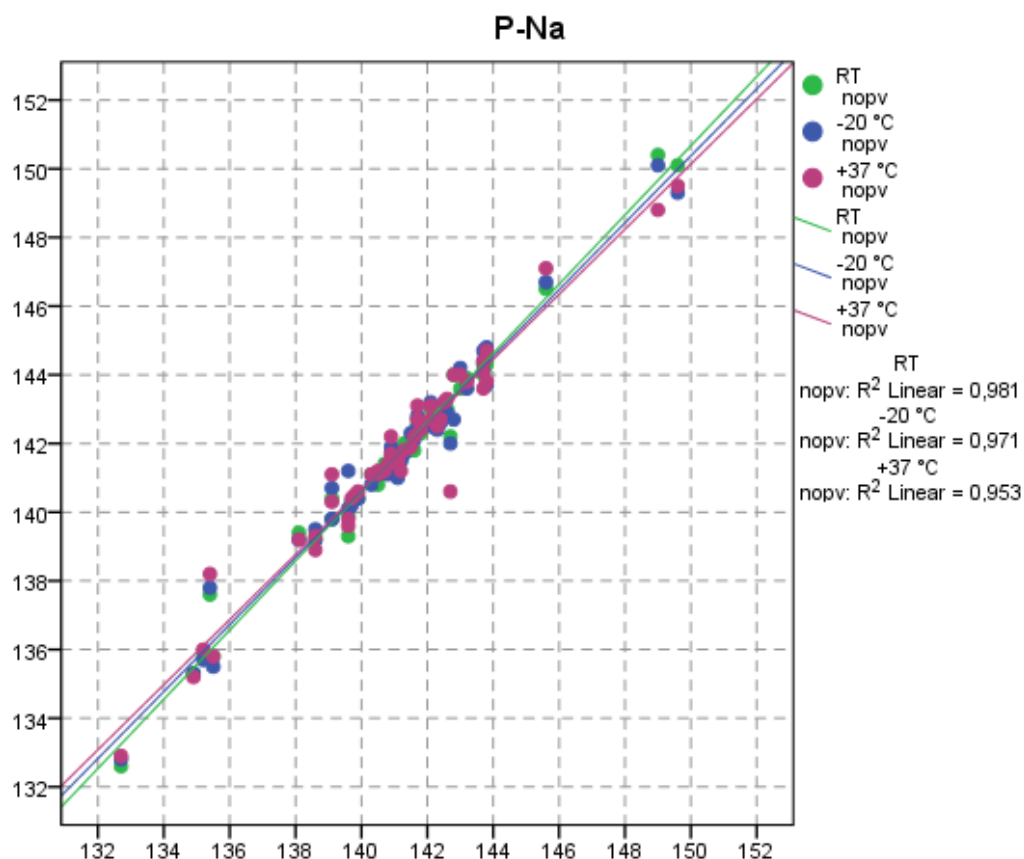
P-Na				
	nopv	RT	-20 °C	+37 °C
n	50	50	50	50
Keskiarvo	141,1	141,7	141,7	141,7
Mediaani	141,2	141,8	141,7	141,7
Keskihajonta	3,1	3,1	3,0	3,0
Minimi	133	133	133	133
Maksimi	150	150	150	150
Kvartiilit	25 %	140	140	140
	75 %	143	143	143



Kuvio 8. P-Na-sarjojen tulokset laatikkojanakuviaina.

Wilcoxonin testin tuloksena suurin osa eli yli 40 kaikkien säilytettyjen sarjojen tuloksista oli korkeampia kuin nopv-sarjan tulokset. Eniten korkeampia tuloksia oli RT-sarjassa, jonka tuloksista 47 oli korkeampia kuin nopv-sarjassa.

Pearsonin korrelaatiokerroin oli nopv-sarjan ja RT-sarjan välillä 0,991, nopv-sarjan ja -20 °C-sarjan välillä 0,986 ja nopv-sarjan ja +37 °C-sarjan välillä 0,976. Kaikki korrelaatiot olivat positiivisia ja voimakkaita sekä tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Korrelaatioiden sirontakuviot sekä regressiosuorat esitellään kuviossa 9.



Kuvio 9. P-Na-sarjojen tulosten korrelaatiot sirontakuviaina sekä regressiosuorat.

T-testien tuloksina kaikkien vertailuparien erot olivat tilastollisesti merkitseviä ($p < 0,001$). Kaikkien vertailujen osalta H_0 hylättiin ja H_1 astui voimaan. Pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä, pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkaselle altistumisen kanssa sekä yhdessä lämmölle altistumisen kanssa vaikuttivat P-Na-tuloksiin.

5.5 Analyttiset kokonaisvirheet

Tuloksista määritettiin kuinka suuri osa RT-sarjan, -20°C-sarjan ja +37°C-sarjan tuloksista ylitti kunkin analyytin analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoite-rajat verrattuna nopv-sarjan tuloksiin ja kuinka suuri osa pysyi rajojen sisällä.

Taulukosta 7 nähdään P-ALAT-sarjojen tulokset. Tavoite P-ALAT:lle oli $\pm 12\%$. Suurin osa P-ALAT-tuloksista saavutti tavoite-rajat. Eri sarjojen välillä ei ole kovin suuria eroja, -20 °C-sarjan tuloksista tavoite-rajat saavutti kaksi vähemmän kuin muiden sarjojen tuloksista. Rajojen ulkopuoliset tulokset ovat sekä alle että yli tavoite-rajoiden.

Taulukko 7. P-ALAT-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.

P-ALAT						
	< -12 %		$\pm 12\%$		> 12 %	
	f	f %	f	f %	f	f %
RT	3	6 %	44	90 %	2	4 %
-20 °C	5	10 %	42	86 %	2	4 %
+37 °C	2	4 %	44	90 %	3	6 %

P-Gluk-sarjojen tulokset esitetään taulukossa 8. Tavoite P-Gluk:lle oli $\pm 6\%$. RT-sarjan kaikki tulokset saavuttivat tavoite-rajat. Pakkaselle ja lämmölle altistuneiden sarjojen tuloksista osa jäi alle tavoite-ajan. +37 °C-sarjan tuloksista tavoitteen täytti selvästi harvempi kuin muiden säilytettyjen sarjojen tuloksista.

Taulukko 8. P-Gluk-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.

P-Gluk						
	< -6 %		$\pm 6\%$		> 6 %	
	f	f %	f	f %	f	f %
RT	0	0 %	50	100 %	0	0 %
-20 °C	3	6 %	47	94 %	0	0 %
+37 °C	15	30 %	35	70 %	0	0 %

Taulukossa 9 esitetään P-K-sarjojen tulokset. Tavoite P-K:lle oli ± 4 %. Kaikkien sarjojen, niin RT-sarjan, -20 °C-sarjan kuin $+37$ °C-sarjan tuloksista kaikki eli 100 % saavuttivat analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoitteet.

Taulukko 9. P-K-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.

P-K						
	< -4 %		± 4 %		> 4 %	
	f	f %	f	f %	f	f %
RT	0	0 %	50	100 %	0	0 %
-20 °C	0	0 %	50	100 %	0	0 %
+37 °C	0	0 %	50	100 %	0	0 %

P-Na-sarjojen tulokset ovat esillä taulukossa 10. Tavoite P-Na:lle oli ± 2 %. Myös P-Na:n kohdalla kaikkien sarjojen tuloksista kaikki 100 % saavuttivat analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoitteet.

Taulukko 10. P-Na-sarjojen tulosten asettuminen analyttisen kokonaisvirheen tavoitteisiin.

P-Na						
	< -2 %		± 2 %		> 2 %	
	f	f %	f	f %	f	f %
RT	0	0 %	50	100 %	0	0 %
-20 °C	0	0 %	50	100 %	0	0 %
+37 °C	0	0 %	50	100 %	0	0 %

6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tutkimustuloksista kävi ilmi huoneenlämmössä säilytettyjen, pakkaselle altistettujen sekä lämmölle altistettujen näytteiden tulosten korreloivan voimakkaasti näytteenottopäivänä analysoituihin tuloksiin nähden. Tulokset olivat siis samaa tasoa nollanäytteisiin verrattuna tulostasosta riippumatta tämän opinnäytetyön tulostason alueella.

T-testin tulosten ja lämmölle altistetun P-ALAT-sarjan kohdalla Wilcoxonin testin tuloksen mukaan ainoastaan huoneenlämmössä säilytetyn P-ALAT-sarjan tulosten ja vertailukohteena olleen näytteenottopäivänä määritettyjen tulosten välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. Kaikkien muiden sarjojen vertailussa näytteenottopäivänä määritettyihin tuloksiin todettiin tilastollisesti merkitsevä ero jolloin vastahypoteesi astui voimaan. Voidaan siis päätellä että pidentynyt säilytysaika huoneenlämmössä vaikuttaa tilastollisesti merkitsevästi erotellun plasmanäytteen P-Gluk-, P-K- ja P-Na-tuloksiin. Voidaan myös päätellä että pidentynyt säilytysaika yhdessä pakkaselle altistumisen kanssa vaikuttaa tilastollisesti merkitsevästi erotellun plasmanäytteen P-ALAT-, P-Gluk-, P-K- ja P-Na-tuloksiin, samoin pidentynyt säilytysaika yhdessä lämmölle altistumisen kanssa vaikuttaa tilastollisesti merkitsevästi P-ALAT-, P-Gluk-, P-K- ja P-Na-tuloksiin.

Tunnuslukujen sekä Wilcoxonin testin tulosten perusteella voidaan päätellä tulosten muutosten suuntaa. P-ALAT-tulokset näyttivät pääasiassa laskevan sekä pakkaselle että lämmölle altistumisen jälkeen. Myös P-Gluk-tulokset olivat matalampia niin pidentyneen huoneenlämmössä säilytyksen jälkeen kuin pakkaselle ja lämmölle altistumisen jälkeen. P-K- sekä P-Na-tulokset puolestaan olivat korkeampia niin pidentyneen huoneenlämmössä säilytyksen jälkeen kuin myös pakkaselle altistumisen sekä lämmölle altistumisen jälkeen.

Näytteenottoa seuraavana päivänä määritettyjen tulosten muutoksen merkittävyyttä voidaan arvioida analyttiselle kokonaisvirheelle asetettujen tavoitearvojen avulla (Labquality 2005). P-ALAT-tulokset saavuttivat tavoitearajat 86–90

%:sti eri säilytysmuotojen jälkeen. Myös osa pidentyneen huoneenlämmössä säilytysajan jälkeen määritetyistä tuloksista jäi tavoiterajojen ulkopuolelle vaikka tilastollisesti merkitsevää eroa ei todettu verrattaessa näytteenottopäivänä määritettyihin tuloksiin. P-Gluk-tulokset saavuttivat tavoitearvot pidentyneen huoneenlämmössä säilytysajan jälkeen. Pidentynyt säilytysaika yhdessä lämmölle altistumisen kanssa näytti vaikuttavan P-Gluk-tuloksiin merkittävästi, 30 % tuloksista ei saavuttanut tavoiterajoja. Sekä P-K- että P-Na-tulokset saavuttivat analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoiterajat pidentyneestä säilytysajasta huoneenlämmössä, pakkaselle tai lämmölle altistumisesta huolimatta.

7 POHDINTA

Näytteiden lisääntynyt kuljetus keskuslaboratorioihin edellyttää kuljetusolosuhteiden tarkastelua näytteiden sekä laboratoriotulosten laadukkuuden varmistamiseksi. Postitse lähetettävät näytteet altistuvat paitsi pidentyneelle säilytysajalle myös vuodenaikojen mukaan vaihteleville lämpötiloille. (Pohjavaara ym. 2003, 400.) Tässä opinnäytetyössä tutkittiin pidentyneen säilytysajan yhdessä erilaisille lämpötiloille altistumisen kanssa aiheuttamia vaikutuksia neljän yleisen klinisen kemian analyytin tuloksiin. Erilaisilla näytteiden säilytystavoilla pyrittiin simuloimaan olosuhteita, joihin postilähetyksinä kuljetettavat näytteet voivat joutua.

Tykslabin ohjekirja ohjaa lähettämään opinnäytetyöhön valittujen analyyttien kohdalla erotellut plasmanäytteet huoneenlämpöisinä (Tykslab 2013). Tämän johdosta oli oletettavaa näytteiden säilyvän näissä olosuhteissa laadukkaina. Opinnäytetyön tulosten mukaan kaikki tutkitut olosuhteet aiheuttivat tilastollisesti merkitseviä muutoksia mukaan valittujen analyyttien tuloksiin. Ainoastaan huoneenlämmössä säilytettyjen P-ALAT-tulosten muutokset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä.

Tulosten analyttiselle kokonaisvirheelle asetettujen tavoitteiden saavuttamisen perusteella näytteet säilyivät laadukkaimpina pidentyneen säilytyksen tapahtuessa huoneenlämmössä, suurin osa tuloksista saavutti tällöin tavoitteet. Pakkaselle altistuminen ja erityisesti lämmölle altistuminen vaikuttivat suurempaan osaan valittujen analyyttien tuloksista tavalla, joka heikensi niiden laadukkuutta. Tutkimustulosta tarkasteleva lääkäri olettaa laboratoriotulosten olevan laadukkaita ja tekee potilaiden hoitopäätöksiä luottaen tulosten oikeellisuuteen. Virheelliset tulokset saattavat näin aiheuttaa vahinkoa potilaille ja heidän hoidolleen.

Opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää postitse lähetetyistä plasmanäytteistä analysoitujen tutkimustulosten oikeellisuutta. Tutkimustulosten ja niistä johdettujen johtopäätösten perusteella voidaan sanoa, että tavoite saavutettiin. Toisena

tavoitteena oli auttaa selvittämään Tykslab os. 183:n ja sinne näytteitä postitse lähettävien yksiköiden kuljetuskäytännön toimivuutta. Ääriämpötiloille altistuminen näyttää heikentävän näytteiden laadukkuutta, joten niitä on syytä välttää näytteiden kuljetuksessa. Kuljetuslämpötilojen seuranta sekä tarvittaessa näytteiden pakkaaminen lämpötilaolosuhteet huomioiden ovat välineitä näytteiden laadukkuuden turvaamiseksi.

Jatkotutkimusaiheeksi ehdotetaan ääriämpötiloille altistumisen vaikutuksen tutkimista laboratoriotuloksiin irrotettuna pidentyneen säilytysajan vaikutuksesta. Tällöin voitaisiin paremmin arvioida eri tekijöiden vaikutusta näytteiden säilyvyyteen. Myös erilaisten toimenpiteiden selvittäminen näytteiden kuljetuslämpötilan vakiona pysymisen turvaamiseksi postituksen aikana olisi hyödyllistä.

Boyantonin ja Blickin (2002) tutkimuksessa huoneenlämmössä säilytetyistä erotelluista plasmanäytteistä tutkitut analyytit olivat vakaita koko seuratusajan eli 56 tuntia. Jensen ym. (2008) totesivat tutkimuksessaan että erotellut plasma-näytteet voidaan lähettää laboratorioon postitse sekä talvi- että kesäolosuhteissa, paitsi tutkittaessa fosfaattia. Muut analyytit ylsivät tutkijoiden asettamiin laatutavoitteisiin vähintään 92 %:sti. Tämän opinnäytetyön tulokset ovat samansuuntaisia näiden aikaisempien tutkimusten tulosten kanssa. Huoneenlämmössä säilytettyjen näytteiden tuloksissa oli tilastollisesti merkitsevää eroa, mutta ne täyttivät analyyttiselle kokonaisvirheelle asetetut tavoitteet melko hyvin. Jensenin ym. postitettujen näytteiden tulokset ja opinnäytetyön tulokset olivat laatutavoitteiden saavuttamisen kannalta lähellä toisiaan. Jensen ym. ei tutkinut vaikutuksia glukoosin tuloksiin, joten vertailukohde niille puuttuu.

Oddoze ym. (2012) tutkimustuloksena oli että suurin osa tutkituista kemian analyyteistä säilyi tutkimuskelpoisina sekä kylmässä että huoneenlämmössä säilytettynä 24 tunnin ajan. Säilytysmuotoina olivat mm. kokoveri sekä plasmanäyte sentrifugoituna primaariputkessa. Tulokset olivat samansuuntaisia opinnäytetyön tulosten kanssa pidentyneen huoneenlämmössä säilytyksen osalta. Oddoze ym. eivät erotelleet plasmatautiin sentrifugoinnin jälkeen, joten solujen mahdollinen vaikutus joidenkin analyyttien säilyvyyteen erosi opinnäytetyössä tutkituista olosuhteista.

7.1 Tutkimuksen luotettavuus

Kvantitatiivisen tutkimuksen luotettavuutta arvioidaan reliabiliteetin ja validiteetin tarkastelulla. Reliabiliteetti tarkoittaa tutkimustulosten pysyvyyttä eli toistettavuutta. Tutkimustulos on reliaabeli, mikäli toistamalla tutkimus saadaan samanlainen tulos. Tällöin tulos ei ole sattumanvarainen. Validiteetti kertoo kyvystä tutkia juuri haluttua asiaa. Tutkimuksen validiteetin edellytyksenä on oikean tutkimusmenetelmän ja mittarin valinta. (Vilkka 2007, 149-154; Hirsjärvi ym. 2009, 231-233; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 152.)

Opinnäytetyöhön valittu otos edusti hyvin perusjoukkoa eli Tykslab os. 183:lla analysoitavia litiumhepariiniplasmanäytteitä. Ennen näytteiden analysointia opinnäytetyön tekijä kertasi analysaattorin käyttöä laboratorion henkilökunnan ohjauksessa. Analysaattori kalibroitiin ennen analysointia sekä huollettiin tutkimuspäivinä työohjeiden mukaan. Näytteitä analysoitaessa käytössä oli uudet reagenssit, joita käytettiin molempina tutkimuspäivinä. Myös käytetyt kontrollit olivat samasta liuotuserästä molempina päivinä. Opinnäytetyön tekijä analysoi kaikki näytteet itse noudattaen työohjeita. Näillä toimilla pyrittiin minimoimaan analysoinnista johtuvat tulosvaihtelut ja parantamaan tulosten luotettavuutta.

Ennen opinnäytetyön analysointeja oli näytteistä jo määritetty niistä pyydetty tutkimukset ja ne olivat seisoneet jonkin aikaa huoneenlämmössä. Koska opinnäytetyössä käytetyt nollatulokset määritettiin tekijän toimesta, ei tätä määrittystä edeltäneet tapahtumat vaikuttaneet tulosten vertailuun. Toisena tutkimuspäivänä tulokset määritettiin yksi sarja kerrallaan, jolloin analysoinnin viemä aika pidensi viimeisenä analysoitujen näytteiden säilytysaikaa verrattuna ensimmäiseen sarjaan. Tätä viivettä ei voitu välttää, mutta se pyrittiin minimoimaan mahdollisimman sujuvalla ja ripeällä työskentelyllä.

Näytteet analysoitiin vain kerran, toistuvuutta ei käytännön syistä ollut mahdollista testata tulosten uudelleen määrittämisellä. Eroteltu näytemäärä putkea kohden oli melko pieni, 400 µl. Tämä saattoi vaikuttaa näytteessä säilytyksen aikana tapahtuneisiin reaktioihin. Näytemäärä oli kuitenkin riittävä tulosten määrittämiseen, analysaattorilla ei ollut vaikeuksia näytteiden pipetoimisessa. Opin-

näytetyön tekijä kirjasi huolellisesti tutkimuksen kulun muistiin, joten tutkimuksen toistaminen samalla tavalla olisi mahdollista. Lisäksi aikaisempien tutkimusten samansuuntaiset tulokset tukevat arviota opinnäytetyön tulosten hyvästä reliabiliteetista.

Opinnäytetyössä haluttiin selvittää aiheuttaako pidentynyt säilytysaika yhdessä eri lämpötiloille altistumisen kanssa muutoksia plasmanäytteistä määritettyihin tuloksiin. Eri tavoin säilytettyjen näytteiden tuloksia verrattiin nollatuloksiin monen tilastollisen menetelmän avulla sekä tutkittiin saavuttavatko tulokset analyttiselle kokonaisvirheelle asetetut laatutavoitteet. Tulosten vertailut antoivat vastaukset tutkimusongelmiin. Tämän perusteella tutkimuksen validiteetti arvioidaan hyväksi.

Opinnäytetyön otoskoko oli 50 näytettä. Verrattaessa perusjoukkoon otoksen koko on pieni. Koko perusjoukkoa koskevia johtopäätöksiä tuloksista ei tämän takia voida tehdä. Opinnäytetyön tuloksia voidaan pitää suuntaa antavina, mutta johtopäätösten tekoon tarvitaan laajempi tutkimus.

7.2 Tutkimusetiikka

Ihmisiin kohdistuvien lääketieteellisten tutkimusten tutkimusetiikkaa ohjaa Maailman lääkäriliiton Helsingin julistus vuodelta 1964. Sen mukaan ennen tutkimuksen alkua on kartoitettava ja arvioitava yksilölle mahdollisesti aiheutuvat riskit ja haitat ja hänen fyysinen ja psyykinen koskemattomuus on turvattava. Tutkittavan yksilön hyvinvointi on aina etusijalla ja voittaa tietelle tai yhteiskunnalle aiheutuneen edun. (Maailman lääkäriliiton Helsingin julistus 1964; Kankunen & Vehviläinen-Julkunen 2009, 173-174.) Tässä opinnäytetyössä aineistona käytettiin potilaista jo otettuja, lääketieteellisin perustein määrättyjä verinäytteitä, joten potilaille ei aiheutunut mitään ylimääräistä riskiä tai haittaa opinnäytetyön takia.

Helsingin julistus ohjaa suojelemaan tutkittavien yksityisyyttä ja tietojen luottamuksellisuutta kaikin mahdollisin tavoin (Maailman lääkäriliiton Helsingin julistus 1964). Yksityisyyden kunnioittaminen kuuluu potilaan oikeuksiin myös lainsäädä-

dännön turvaamana (Laki potilaan asemasta ja oikeuksista 17.8.1992/785). Opinnäytetyössä verinäytteitä antaneiden yksityisyys suojattiin käyttämällä näyteputkissa juoksevaa numerointia ja kirjainkoodeja. Näin potilaiden henkilötietoja ei tarvittu eikä heidän henkilöllisyytensä tullut opinnäytetyön tekijän tietoon.

Helsingin julistuksen mukaan käytettäessä tunnistettavissa olevaa ihmisperäistä ainesta tutkimuksessa, on sen analysointiin saatava lupa (Maailman lääkäriliiton Helsingin julistus 1964). Laissa ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä (101/2001) säädetään kudoksien ja kudoksenäytteiden käytämisestä muuhun tarkoitukseen kuin mihin ne on otettu talteen. Sen mukaan hoidon tai taudinmäärityksen vuoksi otettuja näytteitä voidaan käyttää tutkimukseen potilaan luvalla. Luvan näytteiden luovuttamiseen voi antaa myös se terveydenhuollon toimintayksikkö, jonka toimintaa varten näyte on otettu, jos henkilötietoja ei käsitellä. Näytteiden luovutus ei saa haitata alkuperäisen käyttötarkoituksen toteuttamista. Tässä opinnäytetyössä käytetyt näytteet luovutti käyttöön Tykslab os. 183. Verinäytteistä pyydetty tutkimukset analysoitiin ja vastattiin tilaajille ennen näytteiden luovutusta.

Tutkimusetiikan tulee ohjata koko tutkimuksen tekoa alusta loppuun. Eettisesti hyvän tutkimuksen tekeminen edellyttää hyvän tieteellisen käytännön noudattamista. (Vilkkä 2005, 29; Hirvonen 2006, 31; Hirsjärvi ym. 2009, 23). Hyvään tieteelliseen käytäntöön sisältyy mm. rehellisyys ja muiden työn kunnioittaminen, yleinen huolellisuus ja tarkkuus, avoimuus sekä tutkimuksen asianmukainen suunnittelu, toteutus ja raportointi (Hirvonen 2006, 31). Rehellisyyteen kuuluu omien tutkimusmenetelmien ja tulosten todenmukainen raportointi vääristelemättä tai jättämättä mitään pois. Muiden työtä kunnioitetaan esittämällä se oikeassa valossa ja merkiten tarkat lähdeviitteet tekstissä. (Vilkkä 2005, 30-31; Hirsjärvi ym. 2009, 25-27.) Epärehellisyys jaetaan vilppiin ja piittaamattomuuteen. Vilppi on tarkoituksellista toimintaa, kun taas piittaamattomuus johtuu tutkijan puutteellisista taidoista. (Vilkkä 2005, 31; Hirvonen 2006, 31.) Tutkijan pitää ottaa vastuu hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta sekä tutkimuksen uskottavuudesta (Vilkkä 2005, 37).

Tässä opinnäytetyössä on noudatettu eettistä ajattelua koko prosessin ajan suunnittelusta raportointiin. Työtä tehdessä on toimittu rehellisesti ja avoimesti noudattaen huolellisuutta ja tarkkuutta. Muilta saatu tieto on merkitty lähdeviitein tekstiin. Oman toiminnan kuvaus sekä tutkimustulokset on esitetty vääristelemättä ja totuudenmukaisesti tekijän taitojen mukaan.

LÄHTEET

Allen-Perkko, S-M 25.9.2012. Henkilökohtainen tiedonanto.

Boyanton, B. L. & Blick, K. E. 2002. Stability Studies of Twenty-Four Analytes in Human Plasma and Serum. *Clinical Chemistry*. Vol 48, No 12, 2242-2247. Viitattu 3.3.2013 <http://www.clinchem.org/content/48/12/2242.short>.

Copeland, R. A. 2000. *Enzymes. A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*. Second Edition. New York, New York: Wiley-VCH, Inc.

Guder, W.G.; Narayanan, S.; Wisser, H. & Zawta, B. 2009. *Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory*. 4th, updated edition. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Heikkilä, T. 2008. *Tilastollinen tutkimus*. 7., uudistettu painos. Helsinki: Edita.

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. *Tutki ja kirjoita*. 15., uudistettu painos. Helsinki: Tammi.

Hirvonen, A. 2006. Eettisesti hyvä tutkimus. Teoksessa Hallamaa, J.; Launis, V.; Lötjönen, S. & Sorvali I. (toim.) *Etiikkaa ihmistieteille*. Helsinki: Suomalaisen kirjallisuuden seura, 31-49.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008. *Tilastolliset menetelmät*. 5.-6. painos. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit Oy.

Itella 2011. Laboratorionäytteiden lähettäminen postitse. Viitattu 7.3.2013 http://www.itella.fi/liitteet/palvelutjatuotteet/diagnostiset_naytteet_ohje.pdf

Jensen, E. A.; Stahl, M.; Brandslund, I. & Grinstead, P. 2008. Stability of heparin blood samples during transport based on defined pre-analytical quality goals. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine*. Vol 46, No 2, 225-234. Viitattu 3.3.2013 http://uclaresearch08.angelfire.com/documents/Scandinavia_Protocol.pdf.

Kaila, K. 2008. Näytteiden lähettämisessä ja kuljettamisessa huomioitavia asioita. *Laboratorio-lääketiede ja näyttely* 2008, 105.

Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2009. *Tutkimus hoitotieteessä*. 1. painos. Helsinki: WSOYpro Oy.

Klutts, J. S. & Scott, M. G. 2008. *Physiology and Disorders of Water, Electrolyte, and Acid-Base Metabolism*. Teoksessa Burtis, C. A.; Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. (toim.) *TIETZ Fundamentals of Clinical Chemistry*. St. Louis: Saunders, 655-674.

Koskinen, P. 2010. *Hormonitutkimukset*. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 141-160.

Kouri, T.; Koskinen, P.; Leppänen, E.; Malminiemi, O.; Pohja-Nylander, P.; Pohjavaara, S.; Puukka, R. & Siloaho, M. 2002. Preanalyttisen mittausepävarmuuden laskeminen. *Moodi* 4/2002, 139-148.

Kouri, T.; Siloaho, M.; Pohjavaara, S.; Koskinen, P.; Malminiemi, O.; Pohja-Nylander, P. & Puukka, R. 2005. Pre-analytical factors and measurement uncertainty. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*. Vol 65, No 6, 463-476. Viitattu 3.3.2013 <http://web.ebscohost.com.ezproxy.turkuamk.fi/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&hid=119&sid=c600c7d7-5285-4517-b0ad-0f5efc5efee7%40sessionmgr114>.

Labquality 2005. Yleiskemian tutkimusten laatutavoitteet. Viitattu 7.3.2013 <http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=2005%20Laatutavoitteet.pdf>

Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä. 2.2.2001/101.

Laki potilaan asemasta ja oikeuksista. 17.8.1992/785.

Lindén, A. 2007. Terveysthuollon rakennemuutokset. *Moodi* 3/2007, 99-100.

Maailman lääkäriliiton Helsingin julistus 1964. Viitattu 5.3.2013 <http://www.laakariliitto.fi/etiikka/helsinginjulistus.html>.

Malminiemi, O. 2008. Salliiiko näytteen säilyvyys lähettämisen? *Laboratoriolääketiede ja näyttely* 2008, 107.

Matikainen, A-M.; Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Prima Oy.

Niemelä, O. & Parkkila, S. 2010. Maksan laboratoriotutkimukset. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 167-177.

Oddoze, C.; Lombard, E. & Portugal, H. 2012. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical Biochemistry*. Vol 45, No 6, 464-469. Viitattu 3.3.2013 <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.turkuamk.fi/science/article/pii/S0009912012000197>.

Panteghini, M. & Bais, R. 2008. Enzymes. Teoksessa Burtis, C. A.; Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. (toim.) *TIETZ Fundamentals of Clinical Chemistry*. St. Louis: Saunders, 317-336.

Penttilä, I. 2004a. Aineenvaihdunnan häiriöt ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 119-148.

Penttilä, I. 2004b. Elektrolyytti- ja happo-emästasapaino sekä nesteaitiot ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 152-171.

Penttilä, I. 2004c. Entsyymianalyysien periaatteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 82-89.

Pohjala, S. 2009. Laadukas näytelogiikka. *Moodi* 1/2009, 37-39.

Pohjavaara, S.; Malminiemi, O. & Kouri, T. 2003. Preanalytiikka alueellisessa laboratoriotoinnassa. *Suomen Lääkärilehti* 4/2003, 399-403. Viitattu 7.3.2013 <http://www.fimnet.fi.ezproxy.turkuamk.fi/cl/laakarilehti/pdf/2003/SLL42003-399.pdf>.

Sacks, D. B. 2008. Carbohydrates. Teoksessa Burtis, C. A.; Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. (toim.) *TIETZ Fundamentals of Clinical Chemistry*. St. Louis: Saunders, 373-401.

Scott, M. G.; LeGrys, V. A. & Klutts, J. S. 2008. Electrolytes and Blood Gases. Teoksessa Burtis, C. A.; Ashwood, E. R. & Bruns, D. E. (toim.) *TIETZ Fundamentals of Clinical Chemistry*. St. Louis: Saunders, 431-449.

Tanner, P. 2007. Näytteiden lähettäminen. *Moodi* 1/2007, 22.

Tanner, P. 2008. Näytteenottoputken valinta. *Laboratoriolääketiede ja näyttely* 2008, 104.

- Tapola, H. 2004a. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 29-31.
- Tapola, H. 2004b. Näytteenotto. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 24-29.
- Thermo Scientific 2007. Pyridoxal phosphate. Reagenssipakkausinsertti.
- Thermo Scientific 2008. Potassium Micro Volume Electrode. Elektrodipakkausinsertti.
- Thermo Scientific 2011a. ALT/GPT. Reagenssipakkausinsertti.
- Thermo Scientific 2011b. Glucose (HK). Reagenssipakkausinsertti.
- Tuokko, S.; Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Tykslab 2013. Tykslab ohjekirja. Viitattu 7.3.2013 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/>.
- Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapaino. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 93-120.
- Uusitalo, H. 1998. Tiede, tutkimus ja tutkielma. Johdatus tutkielman maailmaan. 1.-5. painos. Helsinki: WSOY.
- Vilka, H. 2005. Tutki ja kehitä. Helsinki: Tammi.
- Vilka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.
- Åkerman, K. & Jokela, H. 2010. Entsymaattiset menetelmät. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, 67-70.

Tutkimuslupa

VARSAINAIS-SUOMEN SAIRAANHOITOPIIRI
EGENTLIGA FINLANDS SJUKVÄRDSDISTRIKT

HOITOTYÖN TUTKIMUS- JA OPINNÄYTETYÖ

Nro _____

LUPAHAKEMUS (katso erilliset ohjeet: <http://www.vsshp.fi/fi/tutkimus>)

Hakemus lähetetään: VSSHP, TYKS, Hoitotyön toimisto, suunnittelija, PL 52, 20521 TURKU

☒ Uusi tutkimus

☐ Jatko/Muutos lupaan

TUTKIMUSLU- VAN HAKIJA/ HAKIJAT	Nimi/nimet: Annika Helkearo	
	Osoite: Pajukuja 6 as 5 32200 Loimaa	
	puhelin: 0505675242	sähköposti: annika.helkearo@students.turkuamk.fi
Opiskelu- tai työpaikka	Turun ammattikorkeakoulu, Ruiskadun yksikkö	
Opinnäytetyö	Bioanalytiikan ko	
	<input type="checkbox"/> Väitöskirja <input type="checkbox"/> Pro gradu <input checked="" type="checkbox"/> Opinnäytetyö/AMK <input type="checkbox"/> muu, mikä? _____ <input type="checkbox"/> Licensiaattityö <input type="checkbox"/> Ylempi AMK	
TUTKIMUKSEN/ OPINNÄYTE- TYÖN TIIVIS- TETTY KUVAUS (mm. tutkimuksen nimi, päätaivottimet, menetelmät, aineis- to, tutkimuksen suori- tuspaikka, tutki- muksen merkitys)	Opinnäytetyön työnimi on Neljän kemian analyysin preanalyttinen säilyvyys erotellussa plasmanäytteessä. Laboratoriotöiden keskittyessä isompiin yksiköihin, näytteiden kuljetustarve on lisääntynyt. Tämä nostaa esiin näytteiden säilyvyyden kuljetusten aikana niiden altistuessa paitsi viiveelle myös ympäristön vaikutuksille kuten lämpötilan vaihteluille. Opinnäytetyön tavoitteena on osaltaan parantaa potilaiden saamaa palvelua ja hoitoa selvittämällä postitse lähetetyistä plasmanäytteistä analysoitujen tutkimustulosten oikeellisuutta. Tavoitteena on myös auttaa selvittämään TYKSLAB os. 183:n ja sinne näytteitä postitse lähettävien yksiköiden nykyisen kuljetuskäytännön toimivuutta tutkimustulosten näkökulmasta. Työssä tutkitaan postitukseen kuluvan ajan ja eri lämpötiloille altistumisen vaikutusta neljän kemian analyysin tuloksiin. Analyytit ovat alaniiniaminotransferaasi, kalium, natrium ja glukosi. Aineistona käytetään Loimaan aluesairaalan potilaista lääketieteellisistä syistä otettuja ja jo analysoituja litium-hepariniplasmanäytteitä. Opinnäytetyö suoritetaan kvantitatiivisena otantatutkimuksena, otoksen koko on 50 näytettä. Tutkimus suoritetaan TYKSLAB os. 183:lla Loimaalla.	
TUTKIMUKSEN OHJAAJA(T)	5.12.2012 <u>Maria Kelander</u> allekirjoitus/nimen selvitys	7.12.2012 <u>Irja Hieta</u> allekirjoitus/nimen selvitys
YHTEYSTIEDOT	<u>MARIA KELANDER</u> <u>maria.kelander@turkuamk.fi</u> <u>IRJA HIETA</u> <u>irja.hieta@tut.fi</u>	
SITOUS JA JULKAISULUPA	Sitoudun noudattamaan hyvää tutkimuskäytäntöä, sairaalan yleisiä sääntöjä sekä vaitiolovelvollisuutta (http://www.vsshp.fi/fi/tutkimus/1071/ , www.turkuarc.fi). 5.12.2012 <u>Annika Helkearo</u> hakijan allekirjoitus/nimen selvitys 1.12.2012 <u>Annika Helkearo</u> hakijan allekirjoitus/nimen selvitys	
YLIHOITAJAN LAUSUNTO JA YHDYSHENKI- LÖN NIMEÄMINEN VSSHP:ssä	Klinikin/yksikön kehittämishanke, johon opinnäytetyö/tutkimus liittyy: _____ Yhdyshenkilö/virka/toimen nimi: _____ (yh nimeää) Puollan <input type="checkbox"/> En puolla <input type="checkbox"/> Ylihoitaja(t) 1.12.2012 _____ allekirjoitus/nimen selvitys 1.12.2012 _____ allekirjoitus/nimen selvitys	
HOITOTYÖN ASiantuntija- RYHMÄN LAUSUNTO	<input type="checkbox"/> Lupaa puoleltaan <input type="checkbox"/> Ei puolelta, Perustelu (tarv. liitteenä) <input type="checkbox"/> Pyydetään lähettämään eettiselle toimikunnalle 1.12.2012 _____ allekirjoitus/nimen selvitys <input type="checkbox"/> Pyydetään lisäselvityksiä: _____	
EETTINEN TOIMIKUNTA	Eettisen toimikunnan lausunto saatu (liitteenä) 1.12.2012	
TUTKIMUS- LUVAN MYÖNTÄMINEN	<input checked="" type="checkbox"/> Myönnetty <input type="checkbox"/> Ei myönnetty 27.12.2012 <u>Benita Palo</u> allekirjoitus/nimen selvitys allekirjoitus/nimen selvitys VSSHP:n/sairaalan nimen saa julkaista tutkimusraportissa/opinnäytetyössä Kyllä <input checked="" type="checkbox"/> Ei <input type="checkbox"/> Haluan nähdä tutkimusraportin/opinnäytetyön ennen julkaisuluvan antoa Kyllä <input checked="" type="checkbox"/> Ei <input type="checkbox"/> Päätös annettu tiedoksi hakijalle 28.12.2012 Päätöksen antoi <u>email fr. valto</u>	

Konelab 60i:llä määritetyt tulokset

näyte	P- Alat				P-Gluk			
	nopv	RT	-20 °C	+37 °C	nopv	RT	-20 °C	+ 37 °C
1	6	10	10	11	4,7	4,66	4,47	4,33
2	21	20	19	20	4,7	4,64	4,23	3,94
3	44	44	43	43	5,26	5,3	5,16	5,22
4	91	91	88	88	7,9	7,88	7,65	7,43
5	91	92	88	89	7,78	7,78	7,38	7,55
6	10	9	9	10	6,98	6,89	6,81	6,75
7	11	11	10	11	6,81	6,84	6,6	6,52
8	43	44	41	43	5,25	5,19	5,14	5,14
9	7	6	6	6	7,84	7,86	7,81	7,66
10	6	6	6	7	5,13	5,06	5,02	4,79
11	7	12	11	12	4,65	4,58	4,55	4,42
12	7	6	6	7	7,74	7,77	7,75	7,72
13	35	34	33	32	8,68	8,45	8,38	8,19
14	64	63	61	62	4,3	4,05	4,15	3,94
15	55	57	54	54	8,31	8,12	8,24	8,02
16	6	5	5	5	4,38	4,19	4,26	4,14
17	31	31	30	30	6,27	6,23	6,02	5,87
18	12	11	11	11	6,7	6,81	6,53	6,72
19	2101	2020	1988	1971	5,95	5,88	5,75	5,7
20	26	25	26	25	5,11	4,97	4,89	4,73
21	23	22	21	22	6,2	6,09	5,85	5,87
22	43	39	36	38	6,81	6,8	6,52	6,7
23	17	16	15	16	4,63	4,37	4,28	4,25
24	16	15	15	15	5,54	5,41	5,26	5,27
25	11	11	10	10	5,41	5,2	5,31	5,09
26	30	28	28	28	5,32	5,21	5,08	5,09
27	18	17	16	17	4,97	4,73	4,84	4,64
28	15	14	15	14	6,67	6,42	6,32	6,25
29	14	14	14	13	5,77	5,53	5,44	5,26
30	21	20	19	19	4,67	4,59	4,48	4,46
31	26	25	25	24	5,59	5,53	5,3	5,23
32	27	26	25	25	6,31	6,27	6,21	6,41
33	27	26	25	25	6,1	6,15	6,21	6,05
34	16	16	16	15	6,55	6,52	6,34	6,21
35	25	25	24	24	5,3	5,21	5,1	5,04
36	22	21	21	20	7,66	7,46	7,43	7,45
37	28	28	27	28	5,64	5,49	5,45	5,46
38	11	12	12	12	5,87	5,83	5,68	5,73

näyte	P-Alat				P-Gluk			
	nopv	RT	-20 °C	+37 °C	nopv	RT	-20 °C	+ 37 °C
39	13	14	13	14	5,43	5,11	5,08	5,09
40	20	20	19	20	5,01	4,98	4,88	4,84
41	37	38	37	37	5,14	5,24	5,3	5,27
42	40	40	39	40	5,6	5,53	5,55	5,51
43	12	11	12	11	5,49	5,67	5,57	5,58
44	13	12	11	12	8,6	8,56	8,61	8,47
45	24	24	23	23	5,21	5	5,01	4,89
46	12	12	12	12	8,77	8,48	8,25	8,24
47	12	11	12	12	8,81	8,43	8,5	8,27
48	16	16	16	16	4,96	4,8	4,74	4,61
49	51	51	50	49	4,82	4,7	4,54	4,57
50	11	11	11	11	5,67	5,51	5,38	5,36

näyte	P-K				P-Na			
	nopv	RT	-20 °C	+37 °C	nopv	RT	-20 °C	+37 °C
1	4,57	4,62	4,7	4,68	141,2	141,5	141,5	141,2
2	4,1	4,15	4,19	4,2	145,6	146,5	146,7	147,1
3	2,5	2,5	2,55	2,53	139,7	140,3	140,2	140,4
4	3,8	3,84	3,84	3,86	135,2	135,8	135,7	136
5	3,79	3,83	3,85	3,84	135,5	135,8	135,5	135,8
6	3,54	3,58	3,59	3,58	142,5	143,1	142,8	143,2
7	4,27	4,33	4,32	4,32	143,8	144,3	143,7	143,8
8	2,55	2,53	2,55	2,54	139,6	139,3	140,1	139,8
9	4,24	4,27	4,27	4,27	149	150,4	150,1	148,8
10	4,25	4,3	4,3	4,29	138,6	139,2	139,2	138,9
11	4,54	4,57	4,58	4,57	141,1	141,2	141	141,4
12	4,4	4,43	4,43	4,43	149,6	150,1	149,3	149,5
13	4,18	4,22	4,22	4,22	134,9	135,3	135,3	135,2
14	4,16	4,2	4,2	4,2	138,1	139,4	139,2	139,2
15	4,78	4,9	4,89	4,93	139,6	139,9	141,2	139,6
16	4,36	4,41	4,42	4,42	135,4	137,6	137,8	138,2
17	3,59	3,61	3,62	3,64	138,6	139,2	139,5	139,3
18	4,26	4,31	4,31	4,31	143,7	144	144,1	143,6
19	3,69	3,72	3,72	3,73	140,3	141,1	140,8	141,1
20	4,06	4,1	4,09	4,1	140,7	141,4	141,2	141,2
21	4,14	4,19	4,19	4,19	140,8	141,2	141,1	141,4
22	3,23	3,24	3,25	3,24	143,8	144,7	144,8	144,7
23	3,95	4,02	4,01	4,05	140,5	140,8	141,1	141,1
24	3,97	4,01	4,01	4,01	139,8	140,4	140,4	140,5
25	3,47	3,53	3,53	3,52	142,1	143	143,2	143,1
26	3,57	3,62	3,62	3,61	141,1	141,8	141,7	141,6

näyte	nopv	P-K			nopv	P-Na		
		RT	-20 °C	+37 °C		RT	-20 °C	+37 °C
27	3,53	3,58	3,62	3,62	142,8	144	142,7	144
28	4,13	4,19	4,21	4,21	139,1	140,4	140,7	141,1
29	4,07	4,12	4,14	4,13	140,9	141,7	141,9	142,2
30	4,39	4,45	4,45	4,45	143,2	143,9	143,6	143,8
31	4,15	4,23	4,25	4,27	140,9	141,7	141,7	141,7
32	3,79	3,85	3,84	3,84	143,7	144,3	144,4	144,4
33	3,79	3,83	3,83	3,83	143,7	144,3	144,7	144,1
34	3,67	3,73	3,74	3,73	140,5	141	141,1	141,2
35	4,11	4,18	4,19	4,19	142,6	143	142,9	143,3
36	4,69	4,72	4,72	4,72	132,7	132,6	132,8	132,9
37	4,37	4,43	4,42	4,42	139,9	140,4	140,4	140,6
38	3,83	3,87	3,87	3,87	141,3	142	141,7	141,8
39	3,84	3,88	3,89	3,89	142,7	142,2	142	140,6
40	4,59	4,64	4,65	4,65	139,1	139,8	139,8	140,3
41	3,97	4,01	4,03	4,02	141,8	142,3	142,5	142,4
42	4,03	4,07	4,07	4,09	142,4	142,9	142,6	142,7
43	4,98	5,03	5,04	5,03	141,6	141,8	142,1	142,2
44	4,98	5,04	5,07	5,05	141,7	142,5	142,5	142,7
45	3,94	4	4,01	4	141,7	142,7	142,8	143,1
46	4,83	4,88	4,89	4,93	142,3	142,5	142,4	142,5
47	4,96	5,03	5,04	5,04	142,1	142,6	142,5	142,7
48	3,94	4	4,01	4,01	141,1	141,7	141,6	141,5
49	3,86	3,9	3,9	3,9	143	143,6	144,2	144
50	4,93	4,99	5	5	141,5	142,1	142,3	141,9

Konelab 60i:llä käytettyjen kontrollien tulokset

Daytrol	P-Alat	P-Gluk	P-K	P-Na
1	108	5,44	4,26	141,5
2	105	5,36	4,27	141,9
3	106	5,22	4,27	141,8
4	107	5,38	4,28	142,1
5	108	5,36	4,26	141,3
6	105	5,45	4,29	142,1
7	105	5,34	4,29	141,7
8	104	5,37	4,28	141,4
9	106	5,39	4,28	141,5
10	104	5,11	4,29	141,8
11	102	5,3	4,29	141,9
12	104	5,29	4,3	141,6
13	105	5,28	4,3	141,9
14	105	5,47	4,34	142,4
15	103	5,2	4,34	142,7
16	104	5,26	4,35	142,7
ka	112	5,41	4,3	143,8
SD	6	0,2	0,05	1,5

PreciControl	P-Alat	P-Gluk	P-K	P-Na
1	128	12,99	6,76	148
2	124	12,74	6,76	148,1
3	123	12,69	6,76	147,7
4	129	12,99	6,77	148,4
5	126	13,01	6,78	147,9
6	125	13,31	6,83	148,5
7	123	12,71	6,79	147,8
8	126	12,98	6,81	147,8
9	127	13,33	6,84	148
10	124	12,62	6,82	147,8
11	121	12,65	6,82	147,9
12	126	12,93	6,81	147,8
13	127	12,9	6,9	148,3
14	125	13,13	6,84	148,5
15	123	12,82	6,86	148,3
16	126	12,99	6,89	148,5
ka	132	13	6,65	148
SD	6	0,4	0,13	1,5